

UNIVERSITE DE MONTPELLIER

FACULTE DES SCIENCES

T H E S E

présentée à la Faculté des Sciences de Montpellier
pour obtenir le grade de Docteur-Ingénieur

ETUDE CRITIQUE ET EXPÉRIMENTALE
DU DOSAGE DES OEUFS DANS LES PRODUITS CÉRÉALIERS.

par

KÁROLY KOBREHEL

Ingénieur Diplômé

Soutenue le Juillet 1970 devant la Commission d'Examen.

JURY : MM. E. KAHANE,

Président

J. CROUZET,

P. FEILLET

}

Assesseurs

UNIVERSITE DE MONTPELLIER

FACULTE DES SCIENCES

T H E S E

présentée à la Faculté des Sciences de Montpellier
pour obtenir le grade de Docteur-Ingénieur

ETUDE CRITIQUE ET EXPÉRIMENTALE
DU DOSAGE DES OEUFS DANS LES PRODUITS CÉRÉALIERS.

par

KÁROLY KOBREHEL

Ingénieur Diplômé

Soutenue le Juillet 1970 devant la Commission d'Examen.

JURY : MM. E. KAHANE,

Président

J. CROUZET,

P. FEILLET

}
Assesseurs

UNIVERSITE DE MONTPELLIER

FAKULTÄT DES RECHTS

THESE

Présentée à la Faculté des Sciences de Montpellier
pour obtenir le grade de Docteur en Sciences

ETUDE CRITIQUE ET ÉPIGRAPHIQUE
DU DOTAIRE DES DROITS DANS LES PHÉNOMÈNES CÉLÉSTES

PAR M. K. K. K.

Docteur en Sciences



Imprimé à Montpellier chez M. K. K. K.

Président : M. K. K. K.
Rapporteur : M. K. K. K.
Examinateurs : M. K. K. K.
M. K. K. K.

UNIVERSITE DE MONTPELLIER

Faculté des Sciences

Doyen : P. DUMONTET

Assesseurs : Ch. SAUVAGE - M. MAURIN

Doyen honoraire : P. MATHIAS

<i>Professeurs honoraires</i> :	R. JACQUES	J. SOULAS
	M. CASTERAS	G. DENISOT
	E. CARRIERE	J. GRANIER
	E. TURRIERE	Ch. BOUHET
	G. CAUQUIL	

Professeurs titulaires :

M.	M. MOUSSERON	Chimie Organique
M.	J.P. ROIG	Physique
M.	P. CHATELAIN	Minéralogie et Cristallographie
Mle	O. TUZET	Zoologie
M.	G. COUCHET	Mécanique Supérieure
M.	J. SALVINIEN	Chimie-Physique
Mle	A.M. VERGNOUX	Physique
M.	J. AVIAS	Géologie
M.	P. VIELES	Chimie
M.	J. RABINOVITCH	Physique (C.S.U.P.)
M.	E. KAHANE	Chimie Biologique
M.	J.J. MOREAU	Mécanique Rationnelle
M.	B. CHARLES	Mathématiques Pures
M.	J. MOTTE	Biologie Végétale
M.	R. JOUTY	Physique
M.	P. DUMONTET	Physique
M.	R. LEGENDRE	Zoologie
M.	I. ASSENMACHER	Physiologie Animale
M.	A. CASADEVALL	Chimie Organique
M.	B. PISTOULET	Physique
M.	Ch. ROUMIEU	Analyse Supérieure
M.	J. ROBIN	Physique

M.	A. POTIER	Laboratoire des Acides Minéraux
M.	R. LAFONT	Physique
M.	R. JACQUIER	Chimie
M.	J. FALGUEIRETTES	Minéralogie
M.	J. RÉGNIER	Chimie
Mme	J. CHARLES	Mathématiques
M.	P. CAILLON	Physique
M.	J. ROUZAUD	Chimie
M.	Ch. SAUVAGE	Botanique
M.	H. CHRISTOL	Chimie (E.N.S.I.)
Mme	G. VERNET	Biologie Animale
M.	L. CECCHI	Physique
M.	H. ANDRILLAT	Astronomie
M.	M. SAVELLI	Physique
M.	M. MATTAUER	Géologie
M.	L. EUZET	Zoologie
M.	C. DELOUPY	Physique
M.	L. GRAMBAST	Botanique
M.	A. BONNET	Botanique
M.	G. LAMATY	Chimie
M.	R. MARTY	Psychophysiologie

Professeurs sans chaire :

Mme	M.L. DE POUQUES	Botanique (C.S.U.P.)
M.	P. MURAOUR	Géophysique Appliquée
M.	G. TOURNE	Chimie
M.	J. REMY	Géologie
M.	P. DEMANGEON	Géologie
Mme	S. ROBIN	Physique
Mme	Ch. DUBOUL-RAZAVET	Géologie (C.S.U.P.)
M.	E. GROUBERT	Physique
Mme	H. GUASTALLA	Biologie Physico-Chimique
M.	F. PROUST	Géologie
Mle	A. BAILLETTE	Mathématiques (C.S.U.P.)
M.	A. BASSOMPIERRE	Physique
M.	M. MAURIN	Chimie
M.	N. ROBY	Mathématiques
Mme	N. PARIS	Physiologie Végétale

M.	J. PARIS	Zoologie
M.	R. GAUFRES	Chimie
M.	J. SOULIER	Chimie (C.S.U.P.)
M.	G. BOUGNOT	Physique
M.	R. LENEL	Biologie Animale

Professeurs associés :

M.	E. AKUTOWICZ	Mathématiques
M.	A. MICALI	Mathématiques
M.	C. VAGO	Biologie Animale
M.	K. KOHLER	Biochimie

Maîtres de Conférences :

M.	P. MOLINO	Mathématiques
M.	Y. GUITTON	Physiologie Végétale (C.S.U.P.)
M.	G. BOMBRE	Physique (C.S.U.P.)
M.	C. PUISSEGUR	Biologie Animale (C.S.U.P.)
M.	P. VIALLET	Chimie (C.S.U.P.)
M.	J.M. MORETTI	Chimie
M.	L. THALER	Géologie
M.	J. LEGRAND	Physiologie Animale
M.	M. ROUZEYRE	Physique
M.	P. SABATIER	Mathématiques
M.	Ch. CASTAING	Mathématiques
M.	J.D. BAYLE	Physiologie Animale
Mme	M. HAKIM	Mathématiques
M.	R. HAKIM	Mathématiques
M.	M. BAUSSET	Mathématiques (C.S.U.P.)
M.	G. LOUPIAS	Mathématiques
M.	G. MASCHERPA	Chimie
M.	C. GOUT	Physique
M.	R. JONARD	Botaniques
M.	F. LAPSCHER	Physique
M.	C. COMBES	Zoologie (C.S.U.P.)
M.	B. BRUN	Chimie Physique
M.	M. DENIZOT	Biologie Végétale
M.	L. KAISER	Physique (C.S.U.P.)
M.	L. GIRAL	Chimie

M.	A. COMMEYRAS	Chimie
M.	M. AMANIEU	Sciences et Techniques de l'Eau (Hydrobiologie et Mariculture)
M.	J. CROUZET	Sciences et Techniques de l'Alimentation (Biochimie Appliquée)

Maître de Conférences associé :

M.	Y. CORMARY	Géologie
----	------------------	----------

Chargés d'enseignement :

M.	M. LEFRANC	Mathématiques
M.	R. MARTY	Mathématiques
M.	PIETRASANTA	Chimie

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE

Professeur titulaire :

M.	R. CORRIU	Chimie
----	-----------------	--------

Maître de Conférences :

M.	CANO	Physique
M.	FILLARD	Physique
M.	GARCIA	Métallurgie - Génie Mécanique
M.	J.P. TRILLES	Biologie
M.	G. BORDURE	Physique
M.	L. LASSABATERE	Electricité - Electronique
M.	G. LECOY	Génie Electrique
M.	J.P. TRILLES	Biologie Appliquée

Maître de Conférences associé :

M.	JOUANNA	Génie Civil
----	---------------	-------------

Chargé d'Enseignement :

M.	ESCOUFIER	Mathématiques
----	-----------------	---------------

Secrétaire Général :

M.	E. SIAU
----	---------

A Monsieur le Professeur E. KAHANE qui m'a fait l'honneur de m'accepter dans son Service et de me confier ce travail me permettant ainsi de continuer mes études en France. Je suis très heureux de pouvoir lui exprimer ici ma respectueuse gratitude pour la grande bienveillance qu'il m'a témoignée en toute occasion.

A Monsieur le Professeur J. CROUZET qui a bien voulu accepter de siéger dans ce jury. Ses conseils judicieux ont grandement aidé à la rédaction de ce mémoire.

A Monsieur FEILLET, Directeur du Laboratoire de la Technologie des Blés durs et du Riz qui a porté tant d'intérêt au sujet de cette thèse. Qu'il trouve ici ma très sincère reconnaissance pour l'accueil cordial qu'il m'a réservé dans son laboratoire. Je lui dois beaucoup pour l'achèvement de ce travail.

A mes camarades des laboratoires pour la bonne ambiance qu'ils ont su faire régner me facilitant ainsi l'adaptation dans un nouveau milieu.

A Madame GAGLIANO pour l'habile dactylographie de cette thèse.

x
x x

A Monsieur et Madame BIRE et leurs enfants pour leur accueil chaleureux à mon arrivée en France.

x
x x

Mes remerciements à la Société ASTRA CALVE et en particulier à son Directeur Général Monsieur FERON pour l'aide matérielle qu'ils m'ont accordée ainsi qu'à l'entraide universitaire et à l'Institut National de la Recherche Agronomique.

I N T R O D U C T I O N

Si le contrôle systématique de qualité des produits alimentaires fabriqués industriellement s'est imposé pratiquement depuis la naissance de cette industrie, il doit avoir aujourd'hui de plus en plus de précision afin de pouvoir répondre aux exigences croissantes des consommateurs et aux réglementations de plus en plus strictes définies par les pouvoirs publics.

Le développement rapide de la chimie physique, de la biochimie etc.. a favorisé l'apparition de nouvelles méthodes de contrôle dans ce domaine. D'autre part, le développement agronomique en introduisant par exemple de nouvelles variétés rend souvent certains dosages inapplicables à cause de la grande diversité de leurs constitutions chimiques. Enfin, pour des raisons purement économiques, pour avoir des dosages plus simples, plus rapides et le moins onéreux possible, la recherche de nouvelles méthodes reste toujours actuelle.

C'est dans ce contexte et dans cet esprit que nous avons entrepris une étude critique et expérimentale des dosages des oeufs dans les produits céréaliers.

Dans la première partie de cette étude, nous avons tenté de donner un aperçu général du problème avec ses différents aspects et en particulier de donner une image globale des travaux existants à ce sujet.

Les résultats de nos recherches constituent la deuxième partie où nous les donnons en les regroupant selon les méthodes étudiées, puis nous développons une étude faite sur des pâtes aux oeufs de commerce avec l'emploi de ces différentes méthodes pour déterminer leur teneur en oeufs.

Nous terminons notre exposé en donnant nos propositions pour doser les oeufs dans les pâtes alimentaires et les conclusions générales de notre travail.

Ce travail a été effectué en grande partie dans le laboratoire de Chimie Biologique à la Faculté des Sciences de Montpellier, et sa dernière phase au Laboratoire de Technologie des blés durs et du riz à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.

GENERALITES

A - HISTORIQUE

Parmi les produits céréaliers, à côté du pain, ce sont certainement les pâtes alimentaires qui ont aujourd'hui l'usage le plus universel. Leur pays d'origine est la Chine où elles sont connues depuis le plus lointain passé. En Europe, on les fabrique pour la première fois en Germanie, puis en Italie d'où elles se sont répandues dans le monde entier.

Ces derniers temps, la France connaît une progression sensible de la fabrication des pâtes alimentaires. Pour l'année 1965, les 120 entreprises de cette industrie ont réalisé un chiffre d'affaire de l'ordre de 600 millions de francs pour une production de 310 000 tonnes, dont les pâtes aux oeufs constituent environ 10 %. La production de celles-ci a vu d'ailleurs en 1965, une augmentation de près de 37 % par rapport à 1959. (61)

Parmi les pays du marché commun, c'est l'Italie qui occupe la première place dans cette industrie, la France occupe la deuxième, suivie de l'Allemagne Fédérale.

B - DEFINITIONS, DENOMINATIONS

Les pâtes aux oeufs sont de loin les plus importants parmi les produits céréaliers qui incorporent des oeufs. Pour cette raison, nous leur avons consacré la totalité de notre étude.

Le décret du 31 août 1955 (article 3, alinéa let 2) donne la définition suivante des pâtes aux oeufs (17) :

" La dénomination pâtes alimentaires aux oeufs" et d'une manière générale toute désignation et tout mode de présentation évoquant l'incorporation d'oeufs, ne peuvent être utilisés que pour les pâtes contenant, au minimum, par kilogramme de semoule, 140 grammes d'oeufs entiers (coques exclues) ou de jaunes ou le poids correspondant de poudre d'oeufs entiers ou de jaunes.

" La dénomination pâtes alimentaires aux oeufs frais ne peut être utilisée que pour les pâtes contenant dans les mêmes proportions, des oeufs frais au sens des dispositions réglementaires en vigueur concernant la repression des fraudes en ce qui concerne le commerce des oeufs".

Monsieur MANSOLT dans sa communication : Proposition d'une directive du Conseil relative au rapprochement des législations des Etats membres (de la communauté européenne) concernant les pâtes alimentaires suggère les dénominations et définitions suivantes qui seraient valables pour tous les pays du marché commun :

"Pâtes alimentaires de qualité supérieure à haute teneur en oeufs :

Les pâtes alimentaires de qualité supérieure contenant au minimum par kilogramme de semoule, 200 grammes d'oeufs de poule ou le poids équivalent de poudre d'oeufs de poule."

"Pâtes alimentaires aux oeufs entiers :

Les pâtes alimentaires contenant au minimum par kilogramme de semoule fine et éventuellement de semoule, 135 grammes d'oeufs de poule ou le poids équivalent de poudre d'oeufs de poule."

"Pâtes alimentaires aux jaunes d'oeufs :

Les pâtes alimentaires contenant au minimum par kilogramme de semoule fine et éventuellement la semoule, 48 grammes de jaunes d'oeufs de poule ou le poids équivalent de poudre de jaunes d'oeufs de poule."

C - ASPECTS GENERAUX DE LA DETERMINATION QUANTITATIVE DE LA TENEUR EN OEUFS

D'une manière générale, et étant donné sa destination principale la détermination de la teneur en oeufs devrait nous permettre d'affirmer dans la plus large mesure possible l'existence ou l'inexistence d'une fraude ou d'une falsification dans les produits qui incorporent des oeufs. Elle peut servir aux producteurs eux mêmes comme contrôle de fabrication.

Les conditions idéales d'évolution de la teneur en oeuf dans un produit donné consisteraient à déterminer quantitativement un ou plusieurs constituants caractéristiques de l'oeuf et ensuite par un calcul approprié à déduire le taux de l'oeuf présent dans l'échantillon examiné.

En réalité, et surtout lorsqu'il s'agit des produits céréaliers, le problème se pose d'une façon beaucoup plus complexe. Ainsi dans le cas de la pâte aux oeufs, la semoule contient pratiquement toutes les substances qui seraient susceptibles d'être prises en considération pour un dosage de ce genre. L'intérêt se porte donc vers des substances dont la concentration est de loin plus forte dans l'oeuf que dans la semoule et par conséquent, leur taux va augmenter sensiblement dans les pâtes aux oeufs par rapport à la semoule.

D'autres parts le choix de ces constituants est limité essentiellement par deux facteurs :

1°) Leur taux doit être à peu près constant dans les différents échantillons aussi bien d'oeufs que de semoules.

2°) Leur quantité ne doit pas se modifier durant la fabrication et le stockage des pâtes aux oeufs.

Le fait que la plupart des méthodes proposées prêtent plus ou moins à critiques du point de vue de ces deux critères montre combien il est difficile de remplir toutes ces conditions. Néanmoins, les problèmes les plus difficiles à résoudre sont certainement posés par les variations très importantes des divers constituants chimiques d'une variété à l'autre, mais il est

à remarquer aussi que les réactions physico-chimiques et biochimiques (influence de l'humidité, de la chaleur, interventions des constituants notamment enzymatiques de la semoule et de l'oeuf etc) intervenant durant la fabrication et le stockage des pâtes aux oeufs sont insuffisamment étudiées. Dans la littérature, nous ne trouvons que peu de renseignements sur les problèmes.

D - COMPOSITION CHIMIQUE DE LA SEMOULE ET DE L'OEUF

En guise d'illustration des problèmes exposés ci-dessus, rappelons brièvement la composition chimique de la semoule et de l'oeuf qui ont été l'objet de travaux nombreux et approfondis, (55,14,36,60,61).

semoule :	teneur en eau.....	0,85 % de matière sèche
.....	cendres totales.....	2 % de la matière sèche
	lipides totaux.....	74-78 % de la matière sèche
	protides totaux.....	12-16 % de la matière sèche
oeuf :	coque.....	12 %
....	blanc.....	55 %
	jaune.....	33 %

TABLEAU I : COMPOSITION CHIMIQUE DE L'OEUF

:	:	: BLANC D'OEUF	:	: JAUNE D'OEUF	:	: OEUF ENTIER	:
:	:	%	:	%	:	%	:
:	eau	:	87,2	:	53,1	:	74,4
:	cendre	:	0,6	:	2	:	1,1
:	protéines	:	11,5	:	14,4	:	12,6
:	lipides	:	0,1	:	29,3	:	11,0
:	autres	:	0,6	:	1,2	:	0,8
:		:		:		:	

Les plus importantes protéines du blanc d'oeuf sont l'ovalbumine 54 %, coalbumine 15 %, et l'ovomucoïde 11 %... et du jaune d'oeuf, la livetine et les phosphoprotéines (vitelline, vitellenine, phosvitine).

Les lipides du jaune d'oeuf sont constitués de : triglicérides 65 %, phospholipides 30 % (79 % de lécithine et lysolécithine, 17 % céphaline, 2,5 % sphingomyéline) et de cholestérol 4 %.

E - SUR LES METHODES PROPOSEES

Les travaux consacrés à la détermination de la teneur en oeufs dans les pâtes alimentaires, dont la littérature fait état sont en nombre considérable. La diversité relativement grande des méthodes ou modes d'appréciations proposés montre suffisamment à elle seule, d'une part l'intérêt du problème, d'autre part sa difficulté. Les solutions proposées sont toujours discutées et aucune n'emporte une adhésion générale.

Phosphatides :

Les premiers essais que nous connaissons pour déterminer la teneur en oeufs remonte au début de notre siècle. Ils proposent le dosage des phosphatides par minéralisation des lipides préalablement extraits par l'alcool (40,5,28,23,64), mais si leur principe est le même, les modes opératoires diffèrent beaucoup d'un cas à l'autre. Des méthodes analogues ont été proposées pour d'autres produits encore contenant de l'oeuf (18).

Dernièrement, HADORN, JUNGKUNZ et ZURCHER ont étudié plus profondément ce procédé ainsi que le problème général du dosage de l'oeuf dans les pâtes alimentaires (29,30,31,32,33,34) ils ont constaté une diminution progressive des phosphatides avec le temps, qui peut atteindre des proportions fort élevées si le stockage est long.

Cette baisse du phosphore liposoluble avait d'ailleurs été déjà constatée par JUCKENAC (40), qui avait été le premier à proposer cette méthode et qui avait attribué le phénomène à une action enzymatique. Depuis plusieurs autres explications ont été émises, mais aujourd'hui, l'idée de JUCKENAC

semble être suffisamment confirmée (19). Il est à remarquer que la dégradation des phosphatides ne se produit qu'à partir d'une humidité d'environ 13 % (19, 37,38), or l'humidité des pâtes alimentaires doit être inférieure à cette limite.

Malgré les critiques dont cette méthode a été l'objet, GENATTI et LAZAVECCHIA ont tout récemment encore en 1967, proposé de nouveau la détermination de la teneur en oeufs d'après le taux des phosphatides (27).

Choline :

Le dosage de la choline est à rapprocher du principe du dosage des phosphatides. Il a été proposé surtout pour la détermination de la teneur en oeufs dans certains produits alimentaires autres que les pâtes aux oeufs (10,16,66). DAUBNEY ET SEXTON dosent la choline par calorimétrie, CASSON et GRIFFIN par les mêmes méthodes mais après l'action de la lécithinase D extraite du chou. S'ils ont obtenu des résultats satisfaisants pour les produits comme la mayonnaise, la crème glacée etc, les études faites sur les pâtes aux oeufs ont abouti à des conclusions plutôt négatives (30,31,10), pour la même raison que dans le cas des phosphatides.

Cholestérol :

La détermination de la teneur en stérols est probablement le dosage le plus étudié. Il est proposé pour la première fois en 1911 par HEIDUSCHKA et SCHELLER pour remplacer le dosage des phosphatides (37,38). Nous pouvons classer ces méthodes en deux groupes principaux d'après leur principe :

- méthode basée sur la réaction de Liebermann (méthodes colorimétriques ou spectrophotométriques).

- méthodes gravimétriques (précipitation des stérols par la digitonine). Selon leurs auteurs (19,45,46,12,32,29,56,49) ces méthodes donnent de bons résultats, mais si nous comparons entre elles par exemple les valeurs trouvées pour l'oeuf et pour la semoule, nous constatons souvent de grandes différences.

Notons encore la méthode proposée par MUNTONI (53) qui dose les

stérols par la chromatographie en phase gazeuse et le dosage fluorométrique des stérols proposé par ROBERTS (59). L'A.A.C.C a retenu le dosage du cholestérol comme méthode officielle (4) ce qui lui donne un poids particulier.

Acides gras :

SPITERI, CASTANG et SOLÈRE (63) ont été les premiers à essayer de calculer la teneur en oeufs dans les pâtes aux oeufs en se basant sur le taux des acides gras déterminés par chromatographie en phase gazeuse. D'autres auteurs ont employé cette méthode par la suite, sans y apporter beaucoup d'éléments nouveaux (6,7,26) ARMANDOLA et BARBERO (8) ont déduit le nombre d'oeufs mis en oeuvre pour la fabrication de la pâte, en analysant seulement les acides gras des glycérides.

Lipides totaux :

Toutes les méthodes précédentes sont étroitement liées à l'extraction des lipides car les substances mentionnées plus haut, sur lesquels portent les dosages : phosphatides, choline, stérols, acides gras en font partie. Il est donc important que l'extraction des lipides soit la plus complète possible afin d'arriver par la suite à des résultats fiables. Il semble que la méthode la plus employée soit l'épuisement des lipides par un mélange alcool benzène 1/1 V/V (29,30,32,19,3,15,33), mais la technique opératoire varie en général d'un auteur à l'autre. Certains utilisent l'éther éthylique (méthode Soxhlet) comme solvant d'extraction (6,8,25). Il faut remarquer encore que le dosage des lipides totaux peut servir aussi à lui seul pour déterminer la teneur en oeufs dans les pâtes alimentaires (30,31,49,3,15).

Protéines solubles :

Le principe de toutes les méthodes précédentes repose sur la différence de richesse et surtout de constitution entre les lipides de la semoule et de l'oeuf. Parmi, les méthodes basées sur le dosage des protéines solubles de l'oeuf, l'une des plus anciennes et peut être la plus connue est celle de von FELLEBERG modifiée par HADORN et JUNGKUNZ (34,29,33,3,15) où la teneur en protéines solubles est déterminée par le taux de l'azote après leur

extraction et leur précipitation suivies de la minéralisation par la méthode de KJELDAHL. D'après la littérature, ce serait cette méthode qui donnerait d'habitude les résultats les plus exacts (29,34,15,3), mais il apparaît qu'un stockage de longue durée ou le traitement des pâtes par la chaleur pendant le séchage peuvent insolubiliser les protéines et par conséquent fausser le dosage (30,32).

SILANO, D'ERRICO, MICCO, MUNTONI et POCCHIARI déduisent la teneur en oeufs dans les pâtes aux oeufs de l'intensité des bandes protéiques obtenues par migration électrophorétique des protéines (62).

On peut rencontrer encore d'autres méthodes dans la littérature. Elles ne sont pas énumérées ici, parce qu'elles ne sont que les variantes basées au fond sur un des principes que nous avons mentionné.

Il faut noter enfin que toutes les méthodes de dosages qui se basent sur les fractions lipidiques ne donnent des renseignements en effet que sur la présence du jaune d'oeuf, tandis que par les protéines solubles on ne dose que le blanc d'oeuf.

F - CHOIX DES METHODES

Etant donné le nombre élevé et la grande diversité des techniques de dosages préconisées, il nous a été impossible de les retenir toutes afin de juger de leur validité par notre expérience propre.

Lors du choix des méthodes à étudier, nous avons en vue les buts suivants :

- approfondir l'étude de certaines méthodes
- les modifier en les améliorant si elles s'y prêtent
- en rechercher de nouvelles qui rempliraient le plus entièrement possible les conditions décrites plus haut (&C).

Ainsi, nous sommes nous décidés pour les dosages suivants :

Dosage des lipides totaux :

Les travaux consacrés au dosage des lipides dans le laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté des Sciences de Montpellier, illustrent d'une façon convaincante la supériorité sur les autres méthodes d'extraction des lipides de la méthode azéotrope mise au point par KAHANE (41,44), aussi bien au point de vue de rendement que de reproductibilité (9,57,51). RECH a montré qu'elle est quantitative dans le cas du blé et du son, si avant l'épuisement l'échantillon est broyé en milieu aqueux (58). Nous avons trouvé qu'avec quelques modifications cela est également valable pour les différents produits céréaliers (pain, pâtes aux oeufs, biscottes, biscuits). Pour ces raisons, nous avons retenu cette méthode que nous trouvons à la fois précise et assez simple.

Dosage colorimétrique du cholestérol :

Nous avons fait seulement quelques essais à titre de comparaison.

Dosage de la choline :

Déconseillé par certains auteurs, proposé par d'autres, nous l'avons retenu pour pouvoir fournir notre propre conclusion.

Dosage des esters méthyliques des acides gras :

Il va de pair avec le dosage des lipides totaux. Nous nous sommes efforcés d'approfondir les possibilités offertes par cette méthode.

Dosage des phosphoprotéines :

L'oeuf est exceptionnellement riche en phosphoprotéines et parmi ces protéines notamment la phosvitine qui contient environ 10 % de phosphore. La question se pose : Y a-t-il une possibilité de doser la teneur en oeuf dans les pâtes aux oeufs grâce à cet apport massif de phosphore protéique par l'oeuf ? Dans ce but, nous avons adopté la méthode de THALACKER (65,11) pour l'extraction des phosphoprotéines qui a été appliquée avec succès pour la détermination de la caséine dans les pâtés de viande (11).

Dosage des protéines solubles :

Entre les deux dosages proposés nous avons préféré étudier le dosage électrophorétique des protéines qui est plus simple et plus rapide.

Les travaux antérieurs de FEILLET et ceux qu'il a en cours sur les protéines des blés (20,21,22) nous ont grandement facilité la mise au point d'une nouvelle méthode électrophorétique.

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL UTILISE

Toutes les expériences que nous allons exposer sont effectuées sur les matériels suivants :

Semoules : semoules de commerce

semoules des variétés pures de blé dur (Remerciements à M. FEILLET qui a bien voulu nous fournir ces échantillons de semoules) (Triticum Durum : Montferrier, Lakota, Bdi 17, Mandon, Agathé).

Oeufs : oeufs de commerce de différentes provenances

Pâtes aux oeufs : pâtes aux oeufs de commerce

pâtes aux oeufs confectionnées par nous mêmes.

x
x x

Prise de l'échantillon :

- dans le cas de la semoule, elle est faite directement sans échantillonnage particulier.

- dans le cas de l'oeuf, sur un mélange homogène de cinq oeufs.

- dans le cas des pâtes aux oeufs, sur la poudre obtenue par mouture ou par broyage, de façon que 90 % des particules traversent un tamis de 0,31 mm d'ouverture.

x
x x

Confection des pâtes :

L'homogénéisat des oeufs est dilué avec de l'eau. L'eau est utilisée à raison d'environ 30 % par rapport au poids de semoule mise en oeuvre. Après pétrissage, les pâtes sont laminées, coupées et abandonnées à sécher à l'air libre.

I - DOSAGE DES LIPIDES TOTAUX

Extraction des lipides :

Nous avons adopté la méthode azéotropique mise au point par E. KAHANE (41,44). Pour comparaison, quelques essais sont faits également par la méthode au Soxhlet (51).

Mode opératoire :

Les prises d'essai d'environ 2 g sont rehydratées avec 10 ml d'eau pendant une demi heure. 50 ml d'éthanol à 95 % et 200 ml de benzène y sont ajoutés. Tout est porté à l'ébullition qui est maintenue jusqu'à l'élimination complète de l'eau du système par un dispositif spécial voir fig. 1 (44,58). La phase alcool-benzène est décantée et filtrée. Le résidu est soumis à une nouvelle extraction de la manière que nous venons de voir. Les deux phases organiques sont rassemblées et évaporées sous pression réduite par un évaporateur rotatif. Les extraits ainsi obtenus sont purifiés selon la méthode de FOLCH (24) en appliquant le lavage croisé (44) puis pesés après évaporation du solvant.

Dans certains cas, après l'épuisement des lipides par cette même méthode les échantillons sont broyés une heure sans réchauffement en milieu aqueux (51). Dans ces dernières conditions, l'extraction est quantitative.

Pour l'épuisement des lipides par la méthode au Soxhlet, nous avons utilisé le mélange éthanol benzène 1/1 V/V pendant quatre heures.

Résultats expérimentaux :

Nous avons effectué trois séries d'extraction sur les échantillons de semoule de commerce (Sa) d'oeufs (OEa) et pâtes aux oeufs confectionnées par nous mêmes (Pa) contenant 150 g d'oeuf (OEa) par kg de semoule (Sa). Dans les deux premières séries, l'extraction est faite par la méthode azéotropique sans ou avec un broyage de l'échantillon en milieu aqueux. Dans la troisième série, c'est la méthode au Soxhlet qui est utilisée pour l'épuisement des lipides.

Pour calculer la teneur en oeufs de la pâte aux oeufs examinée, nous

avons utilisé la formule donnée par HADORN et JUNGKUNZ (29,49) :

$$T = \frac{3800 (L_p - L_s)}{L_{OE} - L_p} \quad (f 1)$$

Dans cette formule et dans le tableau II :

L_s = % de lipides totaux de la semoule dans la matière sèche.

L_{oe} = % de lipides totaux de l'oeuf " " "

L_p = % des lipides totaux de la pâte aux oeufs " "

T = teneur en oeuf de la pâte aux oeufs exprimée en g d'oeuf frais/kg de semoule.

3800 = constante pour obtenir le taux T en oeufs frais (1g d'oeuf frais contient en moyenne 0,263 g de matière sèche, $1/0,263 = 3,8$)

Les résultats de ces séries d'expériences sont regroupés dans le Tableau II. Les taux de lipides sont exprimés en mg/g de matière sèche.

TABLEAU II : DOSAGE DES LIPIDES TOTAUX PAR DES METHODES DIFFERENTES

:	:	extr. azéotropique	:	ext. Soxhlet	:
:	:		:		:
:	:	broyage aqueux	:	broyage à sec	:
:	:		:		:
:	L_s	25,6 25,3 } 25,5	:	21,3 20,8 } 21,2	:
:		25,8 25,5 }	:	21,5 20,9 }	:
:			:	17,7 }	:
:			:	17,5 }	:
:	L_{oe}		:		:
:			:	488 }	:
:			:	492 }	:
:	L_p	44,0 }	:	39,8 }	:
:		43,2 }	:	39,7 }	:
:			:	39,5 }	:
:			:		:
:	T	152	:	154	:
:			:	159	:
:			:		:

Ces résultats confirment la bonne reproductibilité de la méthode azéotrope ainsi que son meilleur rendement par rapport aux autres méthodes d'extraction des lipides, en l'occurrence celle au Soxhlet. Il est intéressant de remarquer ici que lorsque nous avons repris le résidu déjà épuisé par la méthode au Soxhlet et l'avons soumis à une nouvelle extraction par la méthode azéotrope après un broyage de l'échantillon en milieu aqueux, le taux de lipides

ainsi obtenu est égal à la différence de rendement que nous constatons entre les deux modes d'extraction dans le tableau II.

La comparaison n'a pas été faite avec la méthode d'extraction qui fait intervenir préalablement une hydrolyse acide du produit et donne des rendements lipidiques élevés car comme l'avait montré RECH, ces extraits sont chargés des produits non lipidiques (58) et les lipides même subissent une dégradation.

L'écart entre la quantité d'oeuf réellement incorporée dans la pâte et celle que nous trouvons par le calcul est faible. La concordance est particulièrement remarquable lorsque l'épuisement des lipides est précédé par un broyage de l'échantillon en milieu aqueux.

Cette méthode nous permet également de faire un bilan lipidique précis.

$$L_p = \frac{Q_s \cdot L_s + Q_{oe} \cdot L_{oe}}{Q_s + Q_{oe}} \quad (f\ 2)$$

ou L_p = teneur en lipides dans la pâte aux oeufs en mg/g de matière sèche.

Q_s = quantité de semoule mise en oeuvre (en matière sèche).

Q_{oe} = quantité de l'oeuf mise en oeuvre (en matière sèche).

$$L_p = \frac{885 \cdot 25,5 + 35,4 \cdot 490}{920,4} = 43,4$$

Par cette formule, la valeur calculée de L_p est donc égale à 43,4 qui ne diffère guère de la teneur lipidique trouvée par l'expérience, soit 43,6mg/g (tableau II).

x
x x

Etant donné que l'extraction azéotropique sans un broyage préalable de l'échantillon en milieu aqueux se prête mieux à une analyse de routine, qu'elle est plus simple, plus rapide et comme nous l'avions vu, qu'elle donne des résultats satisfaisants, c'est cette méthode que nous avons utilisée dans la suite de notre travail.

Etude des pâtes aux oeufs ayant des teneurs différentes en oeuf :

Afin d'étudier davantage la précision de cette méthode, nous avons confectionné des pâtes aux oeufs en augmentant progressivement leurs teneurs en oeuf.

Les résultats de cette série d'expériences sont donnés dans le tableau III.

TABLEAU III : DETERMINATION DE LA TENEUR EN OEUF
DANS DIVERSES PATES AUX OEUFS D'APRES LE DOSAGE
DES LIPIDES TOTAUX

:	:	Lipides		:	teneur moyenne	:	teneur en oeuf g/kg de sem.		:
:	:	totaux mg/g		:	en lipides	:			:
:	:	de mat. sec.		:		:	Trouvée	:	Réelle
:	:			:		:		:	
:	semoule	:	17,6 18,1	:	17,8	:		:	
:	oeuf	:	484 481	:	482	:		:	
:	:	:		:		:		:	
:	pâtes	:	21,9 22,7	:	22,3	:	37	:	40
:		:	26,9 27,0	:	26,9	:	77	:	80
:	aux	:	32,9 32,0	:	32,4	:	124	:	120
:		:	34,6 34,4	:	34,5	:	142	:	140
:	oeufs	:	37,6 38,2	:	37,2	:	163	:	160
:		:	41,0 42,0	:	41,5	:	205	:	200

Dans le tableau III les teneurs en oeuf des pâtes aux oeufs sont calculées par la formule (f1) et avec les valeurs moyennes données dans ce tableau.

Etude systématique des semoules et des oeufs :

Les résultats précédents confirment la possibilité de déterminer la teneur en oeuf dans les pâtes aux oeufs par le dosage des lipides totaux avec une précision satisfaisante.

Ainsi dans la suite de notre travail avons-nous essayé d'établir la teneur moyenne en lipides dans les semoules et dans les oeufs lorsque l'extraction des matières grasses est réalisée par la méthode azéotropique.

Dans ce but, nous avons entrepris une étude systématique des semoules issues de différentes variétés pures de blés durs cultivés en France. Dans le cas des oeufs, nous avons analysé des oeufs de commerce de provenances différentes. Les résultats obtenus pour les semoules et pour les oeufs sont donnés respectivement dans les tableaux IV et V.

TABLEAU IV : *LIPIDES TOTAUX DES SEMOULES* .

Variétés de semoule	lipides totaux mg/g de m. s.	teneurs moyennes en lipides	teneurs moyennes générales
Lakota a	19,6 18,9	19,2	
Lakota b	18,8 19,3	19,1	
Lakota c	19,0 18,4	18,7	
Bidi-17	18,0 18,6	18,3	18,5
Mandon	19,1 18,3	18,7	
Montferrier	17,8 18,4	18,1	
Agathé	17,0 17,0	17,0	

TABLEAU V : *LIPIDES TOTAUX DES OEUFS*

	lipides totaux mg/g m. s	teneur moyenne en lipides	teneur moyenne générale
oeuf 1	488 492	490	
oeuf 2	480 482	481	
oeuf 3	513 511	512	488
oeuf 4	470 470	470	
oeuf 5	485 490	487,5	
oeuf 6	475 480	477,5	

Dans le tableau IV, la désignation des trois premiers échantillons de semoule Lakota a,b et c signifie que ces semoules sont de la même variété de blé dur (Lakota) mais de trois régions différentes de France, soit de la zone de culture sud de deux régions différentes, soit de la zone de culture nord. Cette variété est importée des Etats-Unis où elle est cultivée sur une surface importante. Nous constatons que la différence de sol et de climat n'a pas influencé le rendement lipidique.

BIDI-17 est un blé dur originaire d'Afrique du Nord. MONTFERRIER est une variété française sélectionnée à Montpellier. MANDON a la particularité d'être obtenu par croisement du blé dur et du blé tendre. AGATHE est une nouvelle variété française qui vient d'être inscrite dans le "Catalogue des Espèces et des Variétés". Jusqu'à maintenant, elle n'a été cultivée qu'expérimentalement. Sa teneur en lipides est exceptionnellement faible.

On peut remarquer une différence entre la teneur en lipides des variétés pures d'une part (tableau IV) et la semoule de commerce (Sa) d'autre part (tableau II). Nous n'avons pas trouvé d'explication à ces résultats. Peut être s'agit il d'un traitement de la semoule de commerce.

D'une manière générale, nous pouvons dire que la teneur en lipides des semoules est faible et varie peu d'une variété à l'autre.

En ce qui concerne les oeufs, les différences absolues des teneurs lipidiques trouvées sont un peu plus importantes, mais les différences relatives à peu près du même ordre.

L'utilisation des teneurs moyennes générales pour le calcul de la teneur en oeuf dans les pâtes alimentaires par les lipides totaux ne devrait pas conduire à une erreur importante.

Si en général, les valeurs que nous avons trouvées sont un peu plus élevées que celles que nous rencontrons dans la littérature, cela est certainement dû à l'extraction. Le rendement lipidique est en effet toujours supérieur par la méthode azéotropique au rendement par les autres méthodes.

D'après les résultats donnés dans les tableaux IV et V, lorsque l'extraction des lipides est effectuée par la méthode azéotropique, nous pouvons calculer la teneur en oeuf dans les pâtes alimentaires par la formule (f1) dans sa forme :

$$T = \frac{3800 (L_p - 18,5)}{488 - L_p} \quad (F1 \ b)$$

A l'aide de cette formule, nous pouvons construire un abaque (fig II) qui nous permet de trouver directement les teneurs en oeuf correspondantes aux taux des lipides trouvés dans les pâtes aux oeufs examinées.

La détermination de la teneur en oeuf par cette méthode, tenant compte de toutes les variations possibles dues aux teneurs différentes en lipides des semoules et des oeufs, a une approximation de ± 10 g d'oeufs frais par kg de semoule.

Conclusions :

La méthode azéotropique révèle avec une bonne précision les teneurs réelles en lipides des produits examinés.

Sa reproductibilité est satisfaisante.

L'écart entre la teneur en oeuf trouvée par cette méthode et la teneur réelle en oeuf de la pâte aux oeufs étudiée peut atteindre ± 10 g.

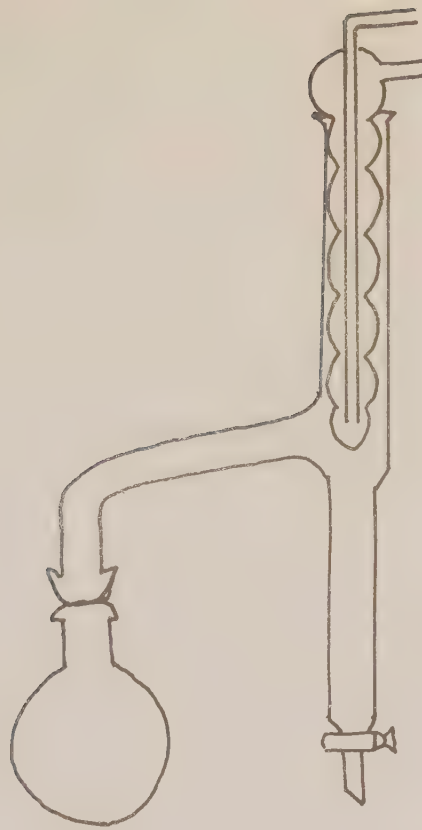


Fig. I - Appareil d'extraction azéotropique

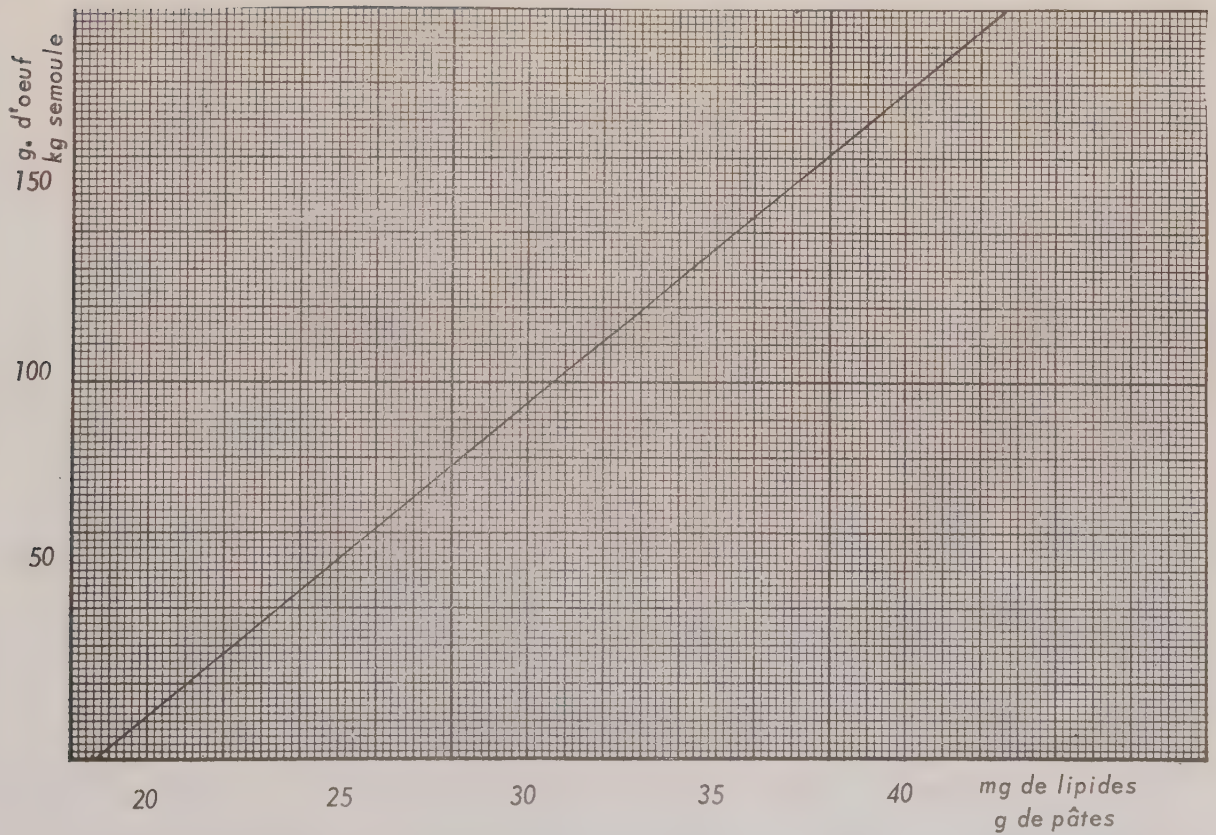


Fig. II - Dosage des oeufs dans les pâtes aux oeufs d'après les lipides totaux
Extraction des lipides : Méthode azeotropique.

II - DOSAGE DE LA CHOLINE

Dans ce chapitre, nous ne rappelons que les principes des méthodes utilisées, on peut retrouver leur description détaillée dans les travaux que nous allons signaler.

Pour le dosage de la choline, nous avons adopté la méthode décrite par E. KAHANE et REGORD (44). La choline est précipitée au milieu alcalin, par le sel de REINECKE séparée, redissoute, puis reprécipitée à l'état de périodure. Ce dernier précipité, dissout dans l'alcool, est titré au thiosulfate.

Nous avons dosé :

- 1, la choline libérée par la lécithinase D
- 2, la choline lipidique
- 3, la choline totale des produits (semoule, oeuf, pâtes aux oeufs)

1) Dosage de la choline libérée par la lécithinase D :

La lécithinase D est extraite de la feuille de chou (16). Son activité enzymatique est déterminée sur l'ovolécithine pure (13) obtenue par chromatographie sur colonne d'acide silicique (50) des lipides totaux de l'oeuf.

La libération de la choline est très lente (16). C'est pourquoi, au lieu d'essayer de libérer la totalité de la choline des échantillons, nous avons arrêté la réaction au bout d'une heure en se plaçant chaque fois rigoureusement dans les mêmes conditions.

Résultats :

L'activité enzymatique moyenne trouvée a été de 0,26 ml de choline libérée par heure et par mg de matière sèche de l'extrait enzymatique. (choline calculée en ion cholonium = $104 : {}^+N(CH_3)_3CH_2CH_2CH_2OH$)

Les analyses effectuées sur les lipides de semoule de l'oeuf et de pâtes aux oeufs ne sont pas concordantes. La choline libérée en une heure par gramme de lipides varie d'un essai à l'autre.

Dans le cas de la semoule, cette variation est de 3,0 à 4,3 mg de choline/g de lipides et de 4,2 à 5,3mg/g dans le cas de l'oeuf. Pour une pâte aux oeufs contenant 150 g d'oeuf/kg de semoule, nous avons trouvé 3,2 mg de choline par g de lipides.

2) Dosage de la choline lipidique

La choline lipidique a été dosée dans les lipides extraits par la méthode azéotropique à partir de la semoule (S) de l'oeuf (oe) et de la pâte aux oeufs (Pa) contenant 150 g d'oeuf/kg de semoule, fabriquée avec la semoule (S) et avec l'oeuf (oe). Cette pâte aux oeufs a été analysée quelques jours après sa confection (Pa) et huit mois plus tard (Pb). Les résultats sont donnés dans le tableau VI.

TABLEAU VI : DOSAGE DE LA CHOLINE LIPIDIQUE

		mg de choline			

		g de lipides			
-----		-----			
semoule (s)		48,4	50,1	}	49,2
oeuf (oe)		26,3	25,8	}	26,0
pâte aux oeufs (Pa)		40,6	41,8	}	41,2
pâte aux oeufs (Pb)		37,1	36,5	}	36,8

Nous trouvons que les lipides de la semoule sont notablement plus riches en choline que les lipides de l'oeuf.

A ce propos, les résultats donnés dans la littérature ne sont pas concordants. Comme d'autres auteurs (19,21), nous pensons que cela est dû aux différents modes d'extraction utilisés, mais il se peut aussi qu'il s'agisse de différences variatales de la teneur des lipides en choline-phosphatide. En adoptant la formule f1, la teneur en oeuf trouvée par cette méthode dans la pâte aux oeufs Pa est égale à 138 g/kg de semoule.

Avec la durée du stockage, nous constatons une diminution de la choline lipidique, en accord avec plusieurs auteurs (19,29,31). Notons que cette diminution s'était produite bien que l'humidité de la pâte n'ait pas dépassé 12 %.

D'après ces résultats, la détermination de la teneur en oeuf sur la base de la choline lipidique serait aléatoire.

3) Dosage de la choline totale des produits

Nous avons travaillé sur des prises d'essais d'environ 1 g. Des échantillons différents d'oeufs et de semoules et une pâte aux oeufs contenant 150 g d'oeuf/kg de semoule ont été étudiés. Les résultats de ces expériences sont regroupés dans le tableau VII.

TABLEAU VII : DOSAGE DE LA CHOLINE TOTALE DANS
LA SEMOULE, DANS L'OEUF ET DANS
LA PATE AUX OEUFS

		mg de choline/g de matière sèche du produit			
semoule a		1,64	1,68	}	1,66
semoule b		1,36	1,36	}	1,36
oeuf a		13,4	14,0	}	13,7
oeuf b		17,8	18,0	}	17,9
oeuf c		14,3	15,6	}	14,9
pâte aux oeufs (Pa)		2,21	2,28	}	2,24

Les résultats nous montrent une variation importante de la teneur en choline dans les différents échantillons d'oeufs et de semoule.

D'autre part, nous pouvons remarquer que dans une pâte qui contient la quantité d'oeuf prescrite par la loi, soit 140 g d'oeuf/kg de semoule, c'est à dire 36,8 g d'oeuf séché pour 885 g de semoule sèche, la semoule apporte bien plus de choline (1328 mg) que l'oeuf (572 mg). L'augmentation du taux de la choline dans la pâte aux oeufs donc n'est ni régulière, ni très importante.

Conclusion :

En accord avec la plupart des auteurs qui ont étudié les possibilités de la détermination de la teneur en oeuf dans les pâtes alimentaires aux oeufs par le dosage de la choline, nous pensons que les résultats ainsi obtenus ne peuvent pas être concluants.

III - DOSAGE DES ESTERS METHYLIQUES DES ACIDES GRAS

Les lipides totaux extraits par la méthode azéotropique sont soumis à une transestérification. Le pourcentage des esters méthyliques des différents acides gras est déterminé par chromatographie en phase gazeuse grâce à quoi on peut tenter ensuite de calculer la teneur en oeuf du produit.

Extraction des lipides totaux :

Elle est effectuée de la même façon que celle que nous avons précédemment décrite pour le dosage des lipides totaux.

Transestérification des acides gras :

Les acides gras des lipides totaux sont transformés en esters méthyliques directement par le méthanol en présence de triflorure de bore. Cette méthode nous a donné d'aussi bons résultats que celle qui consiste à opérer en deux étapes : saponification puis estérification, c'est pourquoi nous avons abandonné cette dernière méthode.

Chromatographie en phase gazeuse :

Nous avons utilisé un appareil CARLO ERBA où la détection se fait par ionisation de flamme.

Caractéristiques :

- colonne en acier inoxydable 800 mm de longueur et 5 cm de diamètre. Elle est remplie de DEGS (succinate de liéthylène glycol) à 20 % sur chromosorb W lavé à l'acide. Température de la colonne : 190° C, de la chambre d'injection 250° C.
- gaz vecteur : azote "U" avec un débit de 20 ml/minute.
- gaz combustible : hydrogène, pression d'entrée 0,4 kg/cm².
- gaz comburant : air comprimé, pression d'entrée 0,9 kg/cm².

Identification des pics chromatographiques :

Habituellement, nous avons identifié les acides gras par comparaison avec des produits étalons. Dans certains cas, nous avons employé la méthode de JAMES et MARTIN (39).

Afin d'analyser les différents groupes lipidiques, nous avons séparé les lipides totaux soit par chromatographie sur couche mince (13) soit par chromatographie sur colonne d'acide silicique (50).

Résultats :

Premièrement, nous avons confectionné des pâtes aux oeufs contenant 150 g d'oeuf/kg de semoule et étudié les esters méthyliques des acides gras des lipides totaux de cette pâte aux oeufs ainsi que de la semoule et de l'oeuf utilisé pour sa fabrication. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau VIII.

TABLEAU VIII : ACIDES GRAS DANS LA SEMOULE
DE L'OEUF ET DES PATES EN
POURCENTAGE DES A. G. TOTAUX

Acides gras %	Semoule	Oeuf	Pâte aux oeufs
C 16	29,3	29,3	30,1
C 16 : 1		3,1	1,5
C 18	0,7	9,6	4,9
C 18 : 1	13,6	46,1	27,6
C 18 : 2	55,4	11,0	34,2
C 18 : 3	1,0	0,9	1,6

Bien que ce soit pratiquement les mêmes acides gras qui entrent dans la composition des lipides de l'oeuf et de la semoule, leur répartition est sensiblement différente dans les deux cas. Il est particulièrement intéressant de constater l'inversion du rapport acide stéarique + acide oléique/acide linoléique de l'oeuf à la semoule. Ainsi la présence de l'oeuf dans une pâte aux oeufs se manifeste au niveau des acides gras de façon que le taux des acides oléique et stéarique augmente tandis que le taux de l'acide linoléique diminue par rapport à la semoule.

Par ces différences et connaissant la teneur en lipides totaux de la pâte aux oeufs, nous pouvons calculer la quantité de l'oeuf mise en oeuvre pour la fabrication de la pâte aux oeufs. Nous avons basé notre calcul sur le taux de l'acide stéarique + acide oléique, car c'est ainsi que nous avons pu obtenir les meilleurs résultats.

Calcul de la teneur en oeuf :

Si nous admettons que le pourcentage des acides gras totaux est le même pour les deux types de lipides, nous pouvons procéder de la façon suivante :

$$Ls \times OSs + Loe \times OSoe = Lp \times OSp \quad \text{(f 3)}$$

$$Ls + Loe = Lp \quad \text{(f 4)}$$

Lp = teneur en lipides de la pâte aux oeufs.

Ls = poids de lipides apporté par la semoule dans Lp .

Loe = poids de lipides apporté par l'oeuf dans Lp .

OSs = pourcentage d'acide oléique + acide stéarique dans les lipides de semoule.

$OSoe$ = pourcentage d'acide oléique + acide stéarique dans les lipides de l'oeuf.

OSp = pourcentage d'acide oléique + acide stéarique dans les lipides de la pâte aux oeufs.

Dans ces deux équations, nous avons deux inconnus : Ls et Loe . Avec les valeurs données dans les tableaux VIII et II pour la pâte aux oeufs (Pa) nous trouvons :

$$Ls \ 14,3 + Loe \ 55,7 = 43,6 \cdot 32,5$$

$$Ls + Loe = 43,6$$

$$(43,6 - Loe) \ 14,3 + Loe \ 55,7 = 43,6 \cdot 32,5$$

$$Loe = 19,2$$

D'autre part, nous pouvons écrire la formule suivante :

$$T = \frac{Loe}{Loe \times Moe} \cdot 1000 \quad \text{(f 5)}$$

T = teneur en oeuf (g d'oeuf frais/1000 g de semoule).

Loe = teneur en lipides de l'oeuf (mg/g de matière sèche).

Moe = matière sèche de l'oeuf (g/g d'oeuf frais).

$$T = \frac{19,2}{490 - 0,263} \quad 1000 = 149$$

Ainsi pour la pâte aux oeufs Pa par les formules f 3,4 et 5, la teneur en oeuf calculée est 149 g, donc pratiquement égale à la teneur réelle.

SPITERI, CASTANG, et SOLERE (63) proposent de calculer la teneur en oeuf sur la base de l'acide linoléique. De cette manière ils ont un taux qui varie entre 150 et 155 g pour les pâtes qui ont contenu 140 g d'oeuf pour 1 kg de semoule. D'autres auteurs ont obtenu le même résultat par cette méthode (6,7). Nous l'avons essayée également, mais au lieu de calculer d'abord le pourcentage des lipides apportés par la semoule et par l'oeuf, dans la matière grasse de la pâte aux oeufs (63) nous avons procédé comme dans le cas précédent, c'est à dire dans la formule f 3, les sommes de l'acide stéarique + acide oléique OSs, OSoe et OSp sont remplacées respectivement par les pourcentages de l'acide linoléique lin_s , lin_{oe} , et lin_p . La teneur en oeuf calculée de cette façon pour la pâte aux oeufs Pa est de 162 g. Nous constatons donc le même phénomène qui est signalé dans la littérature (63,6,7). La teneur en oeuf ainsi calculée est supérieure à la teneur réelle. Il est intéressant de remarquer que cet écart est assez constant : il est toujours d'environ 10 g.

Toutefois, nous pensons qu'il est plus logique de baser le calcul sur le taux de l'acide stéarique + acide oléique que sur le taux de l'acide linoléique car ce sont les lipides de l'oeuf qui sont riches en acides oléique et stéarique, donc l'augmentation du taux de ces acides est proportionnelle à l'augmentation de la teneur en oeuf dans les pâtes aux oeufs. Par contre la diminution du taux de l'acide linoléique n'implique pas directement la présence de la matière grasse de l'oeuf. D'autre part, comme nous allons le voir plus tard, le taux de l'acide linoléique s'est révélé moins constant que le taux des acides oléique et stéarique dans les différents échantillons examinés.

Pour cette raison, nous avons abandonné cette dernière méthode en faveur de la première.

Etude des pâtes aux oeufs avec teneurs différentes en oeuf :

Comme dans le cas des lipides totaux, nous avons étudié la sensibilité de cette méthode pour une gamme de pâtes aux oeufs où nous avons augmenté progressivement la teneur en oeuf. Les résultats de ces expériences sont présentés dans le tableau IX.

TABLEAU IX : ACIDES GRAS DES PATES AUX OEUFS
AVEC TENEURS DIFFERENTES EN OEUF

PATES AUX OEUFS									
	semoule	oeuf	40g oe	80goe	120g oe	140g oe	160g oe	200g oe	
C 16	25,2	27,5	28,2	26,1	25,4	25,1	25,3	25,8	
C 16:1		3,4	0,7	1,7	2,6	2,5	2,8	4,3	
C 18	2,0	10,8	2,9	3,3	3,7	4,1	4,8	5,8	
C 18:1	13,7	44,0	21,8	27,0	31,3	32,6	33,2	33,4	
C 18:2	55,8	14,0	43,6	38,3	34,7	33,8	31,8	28,5	
C 18:3	4,3		2,7	3,0	2,2	1,8	2,6	2,1	
ten.									
en oe.									
calculée			41	78	124	144	165	197	

Nous pouvons constater que la concordance entre les teneurs réelles et calculées sur la base de l'acide stéarique + acide oléique est satisfaisante.

Etude des acides gras des différents groupes lipidiques :

Nous nous sommes posés la question suivante : la différence quantitative constatée entre les acides de la semoule et de l'oeuf dans les lipides totaux est-elle proportionnellement répartie dans les groupes lipidiques ou bien certains parmi ces groupes en portent-ils plutôt la responsabilité ?

Si le deuxième cas se confirmait, il serait plus intéressant d'étudier ces groupes lipidiques au lieu des lipides totaux. Pour répondre à cette question nous avons analysé les esters méthyliques des acides gras des groupes suivants : lipides neutres, céphaline, lécithine et lipides plus polaires que la lécithine. Ces fractions lipidiques sont obtenues par séparation sur couche mince ou sur colonne des lipides totaux de semoule (Sa) de l'oeuf (OEa) et de pâte aux oeufs (Pa). Les résultats de cette étude sont regroupés dans les tableaux X,XI,XII,XIII.

TABLEAU X : ACIDES GRAS DES LIPIDES NEUTRES

:	:	OEUF	:	SEMOULE	:	PATES AUX OEUFS	:
:	:	:	:	:	:	:	:
:	C 14	:	0,4	:	:	traces	:
:	C 16	:	28,6	:	26,8	:	31,3
:	C 16 : 1	:	5,7	:	0,9	:	3,3
:	C 18	:	4,9	:	0,5	:	4,1
:	C 18 : 1	:	51,6	:	22,1	:	34,7
:	C 18 : 2	:	8,7	:	48,2	:	26,3
:	C 18 : 3	:	traces	:	1,5	:	traces
:	:	:	:	:	:	:	:

TABLEAU XI : ACIDES GRAS DE CEPHALINES

:	:	OEUF	:	SEMOULE	:	PATES AUX OEUFS	:
:	:	:	:	:	:	:	:
:	C 16	:	26,6	:	39,8	:	34,6
:	C 16 : 1	:	1,7	:	:	:	traces
:	C 16 : 2	:	:	:	0,6	:	traces
:	C 17	:	:	:	5,6	:	1,3
:	C 18	:	25,3	:	2,6	:	11,8
:	C 18 : 1	:	35,8	:	12,2	:	13,3
:	C 18 : 2	:	8,9	:	39,2	:	38,1
:	C 18 : 3	:	1,6	:	:	:	0,8
:	:	:	:	:	:	:	:

TABLEAU XII : ACIDES GRAS DE LECITHINES

	OEUF	SEMOULE	PATES AUX OEUFS
C 14	traces	0,6	traces
C 16	39,0	41,4	38,7
C 16 : 1	1,1	1,7	1,1
C 18	14,3	2,6	11,4
C 18 : 1	31,3	15,6	26,3
C 18 : 2	13,1	38,0	22,0
C 18 : 3	1,1		

TABLEAU XIII : ACIDES GRAS DES LIPIDES
PLUS POLAIRES QUE LA LECITHINE

	OEUF	SEMOULE	PATES AUX OEUFS
C 16	66,4	69,2	72,7
C 16 : 2		2,9	traces
C 18	19,2	2,5	4,0
C 18 : 1	11,5	11,5	12,1
C 18 : 2	2,9	13,7	11,0

Nous pouvons retrouver comme les tableaux précédents nous le montrent dans chaque groupe lipidique la différence quantitative constatée entre les acides gras des lipides totaux de l'oeuf et de la semoule. Bien que d'une fraction à l'autre varie l'importance de cette différence entre les acides gras de semoule et de l'oeuf, et dans le cas de certains acides cette variation est significative, nous pensons que le choix d'un de ces groupes lipidiques pour le calcul de la teneur en oeuf, n'offrirait pas un avantage suffisant pour justifier l'introduction dans la méthode d'une opération de plus ; le fractionnement des lipides totaux.

Ces essais nous ont permis de faire plusieurs autres observations.

Les pourcentages des acides gras saturés augmentent au fur et à mesure que le groupe lipidique devient plus polaire. Dans le cas de l'oeuf il y a une augmentation de 35 à 85 %. Dans le cas de la semoule de 30 à 70 %. D'ailleurs des résultats semblables ont été déjà signalés.

Il est à remarquer en particulier la forte concentration de l'acide stéarique dans les lipides polaires provenant de l'oeuf.

Il est également intéressant de voir qu'il y a une légère augmentation du pourcentage des acides gras saturés dans les lipides de pâtes aux oeufs (céphaline et lécithine exceptées) par rapport au pourcentage calculé sur la base des acides gras saturés de semoule et de l'oeuf. Le même changement du rapport acides gras saturés/acides gras non saturés a été signalé par d'autres auteurs (1,51), pendant le stockage du beurre et dans le cas des huiles chauffées. Nous pouvons supposer que les fortes teneurs en oeuf obtenues pour les pâtes aux oeufs lorsque le calcul est basé sur le taux de l'acide linoléique sont dues à la diminution relative de cet acide dans la matière grasse des pâtes aux oeufs.

Le pourcentage des acides gras de la céphaline extraite de la pâte aux oeufs ne correspondent pas à ce qu'on attendait d'après leur concentration dans la semoule et dans l'oeuf. Nous n'avons pas trouvé d'explications à ce phénomène.

En outre les résultats donnés dans les tableaux X,XI,XII et XIII nous permettent de calculer dans le cas de chaque groupe lipidique extrait de la pâte aux oeufs, quel est le pourcentage de cette fraction qui vient de la semoule ou de l'oeuf. Ainsi par exemple, nous trouvons que la lécithine extraite de la pâte aux oeufs Pa contient environ 75 % de lécithine provenant des lipides de l'oeuf et 25 % de la semoule.

Etude des acides gras des semoules et des oeufs :

Nous avons poursuivi notre étude sur différents échantillons d'oeufs et de semoules de blés durs afin de connaître le taux moyen en acide stéarique

et acide oléique dans la matière grasse de ces produits. Les résultats obtenus sont classés dans les tableaux XIV et XV.

TABLEAU XIV : ACIDES GRAS DES SEMOULES

	Montferrier	Bidi 17	Mandon	Agathé	Lakota S	Lakota N
C 16	23,2	34	33	24	24,3	24,8
C 18	1,7	1,4	2,4	1,6	1,1	1,4
C 18 :1	13,2	17,0	13,3	11,2	13,2	11,7
C 18 :2	58,4	45	45,3	61,0	56,5	60,0
C 18 :3	3,4	2,2	5,4	1,8	4,8	1,8

TABLEAU XV : ACIDES GRAS DES OEUFES

	OE 1	OE 2	OE 3	OE 4	OE 5
C 16	29,3	27,5	28,5	29,4	25,6
C 16 :1	3,1	3,4	5,1	4,0	3,7
C 18	9,6	10,8	5,6	7,0	9,7
C 18 :1	46,1	44,0	43,4	42,5	41,8
C 18 :2	11,0	14,0	17,1	16,0	18,5
C 18 :3	0,9		traces	0,5	0,8

Dans le cas des semoules, la moyenne de la somme acide stéarique + acide oléique trouvée est de 15,0. Pour les différents échantillons d'oeufs elle est égale à 52.

D'après ces résultats, si nous calculons avec les valeurs moyennes de OSs et OSoe (acide oléique + acide stéarique) l'écart entre la teneur calculée et la teneur réelle de la pâte aux oeufs étudiée, nous trouvons qu'il peut atteindre ± 13 g. Comme les formules f 3 et f 4 nous le montrent, il est évident qu'ici encore le dosage des lipides totaux joue aussi un rôle important.

D'autres auteurs qui ont également essayé de déterminer la teneur en oeuf par l'analyse des acides gras signalent des écarts moins importants entre les taux des différents acides gras. Mais il faut remarquer qu'ils ont travaillé toujours sur un nombre d'échantillon plus restreint (63,6,7). Autrement nos résultats sont comparables à ceux qu'ils ont obtenus.

Il faut rappeler aussi les études faites sur l'influence de la nourriture chez les poules pondeuses c'est à dire sa répercussion au niveau des acides gras des oeufs (47,48). Il a été démontré que par des régimes lipidiques spéciaux, on arrive à changer sensiblement la concentration des différents acides gras des oeufs. Néanmoins, d'après nos résultats et en les comparant à ceux que nous trouvons dans la littérature, il nous semble qu'en général la concentration des différents acides gras est relativement constante dans les oeufs de provenance différente.

Les rapports des acides gras :

Plusieurs auteurs ont essayé de définir des rapports moyens entre les acides gras des lipides de pâtes aux oeufs pour une teneur en oeuf donnée (63, 6, 7, 26). Il nous semble que les rapports ainsi établis sont beaucoup moins concluants que le calcul direct de la teneur en oeuf décrit plus haut. On peut éventuellement dire par exemple, que le rapport acide oléique + acide stéarique/acide linoléique doit être supérieur à 0,90 lorsque au moins 140 g d'oeuf sont incorporés par kg de semoule dans la pâte aux oeufs étudiée.

Conclusion :

L'analyse des acides gras donne des renseignements précis sur la nature des lipides extraits des pâtes aux oeufs et permet de calculer la teneur en oeuf avec une précision médiocre.

D'après les valeurs moyennes trouvées, la formule f 3 à la forme définitive :

$$L_s \times 15,0 + L_{oe} \times 52,0 = L_p \times OSp \quad (f \ 3b)$$

L'étude des différents groupes lipidiques peut fournir des renseignements complémentaires intéressants sur la nature des lipides. Toutefois, nous pensons qu'elle n'offre pas suffisamment d'avantages pour être recommandée comme méthode de contrôle.

IV - DOSAGE DU PHOSPHORE DES PHOSPHOPROTEINES

Les phosphoprotéines des pâtes aux oeufs sont extraites par la méthode de THALACKER (65), elles sont minéralisées et leur teneur en phosphore est dosée par la méthode d'ALLEN (2).

Nous nous limitons à une exposition brève du procédé de la méthode de THALACKER.

Le produit est délipidé par un mélange alcool-chloroforme. Le phosphore acido soluble est extrait par l'acide perchlorique à 10 % à + 4° C. L'extraction des acides nucléiques est réalisée à 90° C par l'acide perchlorique à 5 %. Le phosphore est dosé dans le résidu protéique ainsi obtenu. La minéralisation se fait également par l'acide perchlorique. Le complexe phosphomolybdique réduit en présence de l'amidol (diaminophénol) et du bisulfite de sodium est dosé par spectrophotométrie.

Résultats, discussions

Nous avons effectué nos essais sur les résidus obtenus après extraction azéotropique car nous avons remarqué qu'il n'y a pas de grande différence entre les résultats obtenus de cette façon et ceux où l'épuisement des lipides se fait par la méthode de THALACKER.

Nous avons analysé une pâte aux oeufs qui a contenu 150 g d'oeuf ainsi que la semoule et les oeufs utilisés pour sa confection. Les résultats sont donnés dans le tableau XVI.

La teneur en oeuf est calculée par une formule similaire à f 1 où les teneurs en lipides sont remplacées par celles du phosphore. Ainsi en calculant avec les valeurs moyennes nous avons :

$$T = 3800 \cdot \frac{24,25 - 17,95}{190 - 24,25}$$

$$T = 147$$

TABLEAU XVI : DOSAGE DU PHOSPHORE DES PHOSPHOPROTEINES

:	:	mg de P protéique/100 g	:	teneur en oeuf	:
:	:	de produit	:	trouvée	:
:	:	:	:	:	:
:	semoule	17,9	18,0	:	:
:	oeuf	191,0	189,0	:	147 g
:	pâte aux oeufs	24,3	24,2	:	:
:	:	:	:	:	:

La teneur en oeuf de la pâte aux oeufs a donc pu être déterminée avec une très bonne précision. Néanmoins, il faut remarquer que la plus grande partie du phosphore trouvé dans la pâte aux oeufs est due à la semoule. Le dosage doit donc être très précis pour avoir de bons résultats.

Nous avons poursuivi notre étude par des dosages sur des oeufs de provenances différentes et des semoules extraites de différentes variétés de blés durs. Les résultats moyens de cette série d'expériences sont regroupés dans le tableau XVII.

TABLEAU XVII : TENEUR EN PHOSPHORE DES PHOSPHOPROTEINES
DE SEMOULES ET D'OEUFS

:	:	:	:	:	:	:	:
:	mg de phosphore / 100 g de produit						:
:	:	:	:	:	:	:	:
:	n° des	:	:	:	:	:	:
:	échant.	1	2	3	4	5	Valeurs
:	:	:	:	:	:	:	moyennes
:	semoule	19,0	16,6	14,6	16,4	18,0	16,9
:	oeuf	252,0	221,0	260,0	190,0	:	230,7
:	:	:	:	:	:	:	:

Nous constatons que la teneur en phosphore varie beaucoup d'un échantillon à l'autre en particulier dans le cas des oeufs. Il serait donc illusoire d'utiliser les valeurs moyennes pour la détermination de la teneur en oeuf.

Conclusions :

Le phosphore dosé par cette méthode dans les pâtes aux oeufs provient, dans sa plus grande partie, de la semoule.

Les variations de la teneur en phosphore protéique dans les semoules et les oeufs rend cette méthode inapliquable pour la détermination de la teneur en oeuf dans les pâtes alimentaires.

V - DOSAGE DES PROTEINES SOLUBLES

La teneur en oeuf est déterminée dans les pâtes aux oeufs grâce au comportement différent des protéines de la semoule et de l'oeuf lors de l'électrophorèse.

Extraction des protéines :

L'extraction des protéines (protéines du blanc d'oeuf) est faite par les mêmes tampons qui doivent nous servir pour réaliser la migration électrophorétique. Lorsque pour les dépôts, on utilise 50 μ l de solution, afin de se placer dans la concentration optimale des protéines, nous avons trouvé qu'il faut utiliser 20 ml de tampon pour 1 g de pâte. Une heure de contact entre le produit et le solvant s'est révélée suffisante.

Centrifugation, filtration :

Dans un premier temps nous avons employé la centrifugation pour séparer la solution des protéines et le résidu. La durée a été une heure pour une vitesse de 18 000 tours/minute . Nous avons essayé de remplacer cette opération par une filtration. Dans ce but, nous avons utilisé le filtre "Millipore". Après extraction, c'est à dire, après une heure de contact entre solvant et produit, les extraits sont décantés et passés par un préfiltre, puis par un filtre "Millipore" 0,45 μ d'ouverture. Un filtre est réutilisable plusieurs fois. Il suffit d'un rinçage après chaque filtration. L'intérêt de l'introduction de la filtration au lieu de la centrifugation a deux aspects : d'une part cette opération est plus rapide, d'autre part elle est moins onéreuse. Le changement d'opération n'a aucune influence sur les résultats.

Electrophorèse :

Nous avons utilisé des gels de polyacrylamide à 8 %. Deux tampons ont été employés : un tampon basique Tris pH 8,4 et un tampon acide lactate d'aluminium pH 3,2 (20,21,22,54).

Tampon lactate d'aluminium

.....

- 400 g de lactate d'aluminium dissout dans 5 l d'eau désionisée.
- 5,6 M d'acide lactique (560 g 89,6 %) est ajouté.
- Agitation durant 72 heures (24 h à la température de chambre, puis 48 h à la chambre froide).
- filtration
- Amener à 8 l, pH = 3, après dilution 20 fois, pH = 3,2

Tampon Tris

.....

- 196,5 g Tris
- 19,5 g EDTA
- 15,0 g acide borique
- 1 l d'eau désionisée
- pH = 8,9 après dilution 50 fois, pH = 8,4

Dans le cas du tampon lactate, nous avons fait migrer les protéines pendant trois heures à une tension constante de 8V/cm (environ 60mA). Lorsque nous avons employé le tampon Tris, avant le dépôt des protéines, le gel a été soumis à un précourant de 8V/cm (45mA) pendant 3 heures 30 minutes. La migration électrophorétique des protéines a duré 3 heures à une tension de 7 V/cm (environ 40mA).

Coloration :

Nous avons utilisé le colorant Amidoschwartz 10 b.

- 10 g Amidoschwartz 10 b
- 450 ml méthanol
- 450 ml eau désionisée
- 100 ml acide acétique
- durée de coloration 15 minutes.

Densitométrie :

L'intensité de la coloration des bandes protéiques a été mesurée par un densitomètre.

Résultats :

Après avoir défini les conditions optimales du travail pour les deux tampons utilisés (solvant d'extraction, concentration des protéines dans l'extrait, temps de migration) nous avons entrepris l'étude d'une gamme de pâtes aux oeufs confectionnées par nous mêmes où la teneur en oeuf a varié entre 40 et 200 g pour 1 kg de semoule. Dans le tableau XVIII, nous donnons les résultats obtenus par cette série d'expériences. Les figures 3,7 et 4,8 montrent respectivement les solutions graphiques de ces essais et les photographies de ces gels obtenus pour les deux tampons étudiés.

TABLEAU XVIII : DOSAGE DES OEUFS DANS LES PATES
AUX OEUFS PAR LES PROTEINES

		PATES		AUX		OEUFS			
		40g oe		80 g oe		120 g oe		140goe	
		160 g oe		200 g oe					
teneur	Lactate	45	77	125	139	160	198		
en									
oeuf	Tris	48	86	114	135	162	188		

Calcul de la teneur en oeuf :

Nous avons choisi la solution graphique pour déterminer la teneur en oeuf dans les pâtes examinées. Pour ces calculs, différentes bandes protéiques caractéristiques pour la semoule et pour l'oeuf sont utilisées et non pas exclusivement des bandes de protéines d'oeuf, afin de supprimer l'influence de la concentration absolue des protéines dans les extraits. Ainsi, ni un dépôt éventuellement irrégulier, ni la pesée de l'échantillon n'ont de répercussion sur les résultats.

Pour exprimer l'intensité de la coloration des bandes qui est proportionnelle à la concentration des fractions protéiques, nous n'avons mesuré

que les hauteurs des pics sur les diagrammes obtenus par densitométrie. Sur les figures 5,6 et 9,10, nous présentons les courbes obtenues par densitométrie dans le cas de la semoule de l'oeuf et de la pâte aux oeufs contenant 140 g d'oeuf où soit le tampon lactate soit le tampon Tris ont été utilisés. Sur les figures 3,4 et 7,8, nous avons désigné les bandes choisies pour la détermination de la teneur en oeuf.

Dans le cas du tampon lactate, la teneur en oeuf des pâtes aux oeufs est calculée à l'aide du rapport des bandes D oeuf/B semoule + E semoule (fig 3) Si nous prenons le Rf de E comme 1, dans ce cas, le Rf B = 0,38 et Rf D = 0,8.

Lorsque la migration électrophorétique des protéines a été réalisée par le tampon Tris, nous avons employé le rapport des bandes E oeuf + F oeuf/D semoule (fig 7) les valeurs des Rf sont les suivantes Rf F = 1 Rf E = 0,9 et Rf D = 0,72.

Constructions des graphiques :

La teneur en oeuf est exprimée sur l'ordonnée en g d'oeuf frais par kg de semoule. Les rapports de l'intensité des bandes choisies sont portés sur l'abscisse, c'est à dire les rapports de la hauteur des pics (fig 3 et 7).

Dans le cas du tampon lactate, la droite est obtenue par le rapport des bandes D oeuf/B + E semoule (fig 3). On peut remarquer que cette droite ne passe pas par l'origine. Cela signifie qu'au niveau de la bande D, caractéristique de l'oeuf, même dans les semoules il y a toujours une légère coloration. Toutefois, nous avons constaté que ce fait n'influence nullement le calcul si le travail est exécuté chaque fois dans les mêmes conditions.

Le calcul peut se baser sur le rapport D oeuf/E semoule aussi, mais de cette façon, nous avons obtenu les résultats moins précis.

Dans le cas du tampon Tris, nous avons choisi le rapport des bandes E oeuf + F oeuf/D semoule pour la construction de la droite, mais on peut

également employer le rapport $E_{\text{oeuf}} + F_{\text{oeuf}} / B_{\text{semoule}} + D_{\text{semoule}}$. Le R_f de $B_{\text{semoule}} = 0,45$ (fig 8). La précision du calcul est à peu près du même ordre que dans le cas précédent.

A l'aide d'une de ces droites (fig 3 et 7), après avoir calculé le rapport de l'intensité des bandes protéiques correspondantes nous pouvons lire directement la teneur en oeuf dans les pâtes aux oeufs analysées. Néanmoins il est utile, sinon nécessaire de vérifier la pente des droites par des pâtes aux oeufs aux teneurs en oeuf connues et la corriger éventuellement, il est à souligner que dans chaque cas une variation de la pente ne peut être due qu'aux circonstances du travail.

Etude des semoules de différentes variétés de blé durs :

Nous avons étudié des semoules provenant de différentes variétés de blés durs (Montferrier, Lakota, Agathé, Bidi 17, Mandon etc..). Les comportements électrophorétiques de leurs protéines extraites de la façon décrite plus haut sont comparables. Les bandes protéiques utilisées pour les calculs de la teneur en oeuf dans les pâtes aux oeufs semblent être communes pour chaque variété étudiée.

L'intensité de ces bandes d'une variété à l'autre, est suffisamment constante. Aussi si l'on peut révéler une certaine variation d'intensité dans le cas de la bande protéique B (tampon lactate), elle n'est pas très importante. De toute manière, s'il y a un doute, le résultat peut être vérifier par le rapport D/E.

D'autre part, en ce qui concerne les oeufs, les bandes protéiques utilisées pour les calculs sont dues à l'ovoalbumine dont la teneur est très constante dans les différents échantillons d'oeufs (55).

Interaction entre les protéines de l'oeuf et de la semoule :

SILANO, D'ETTICO, MICCO, MUNTONI, POCCHIARI (62) ont travaillé avec un tampon Tris dans des conditions différentes aux nôtres.

D'après ces auteurs, l'intensité des bandes que nous avons désignée comme E et F, n'augmente pas proportionnellement lorsque nous augmentons la teneur en oeuf dans les pâtes aux oeufs. Ils ont interprété ce phénomène comme une interaction entre les protéines de l'oeuf et de la semoule. Pour cette raison, ils ont déduit qu'on ne peut pas utiliser ces bandes protéiques pour calculer la teneur en oeuf. Contrairement à leur conclusion comme le tableau XVIII et les figures 7 et 8 le montrent, nous pouvons constater que le rapport entre la quantité d'oeuf incorporée et l'intensité des bandes E et F est constant. Ils ont calculé la teneur en oeuf à l'aide de la bande A ($R_f = 0,21$) (fig 8, 9 et 10). Nous estimons qu'il n'est pas recommandable d'utiliser cette bande pour deux raisons :

- Dans le blé tendre, nous avons une fraction protéique qui migre à peu près à la même hauteur ($R_f = 0,22$) voir fig 8. Ainsi dans le cas d'une pâte aux oeufs contenant de la farine, il serait pratiquement impossible de faire la distinction entre la bande qui est due à l'oeuf et celle qui serait due à la farine. Le fait que la loi interdit l'utilisation de la farine pour la confection des pâtes souligne davantage encore l'importance de ce problème.

La deuxième remarque que nous pouvons faire est que même dans les cas de semoules de blés durs, cette zone n'est pas exempte de protéines et leur concentration semble être variable. (fig 7 et 8).

Nous voulons étudier de plus près s'il y a ou non une interaction entre les protéines de semoule et de l'oeuf et dans le cas d'une réponse positive dans quelle mesure cela influence la détermination de la teneur en oeuf par la méthode que nous avons utilisée. Pour cette étude, nous avons confectionné des pâtes aux oeufs avec des semoules provenant des variétés pures de blés durs. La teneur en oeuf était identique dans chaque cas, soit 140 g pour 1 kg de semoule. Après les migrations électrophorétiques, nous avons comparé les bandes protéiques dues aux semoules dans les deux cas et par conséquent aucun signe d'une interaction protéique dans les pâtes aux oeufs. Même si cette interaction protéique existe, nous pouvons dire qu'elle n'a aucune influence sur la validité de la méthode employée tout au moins lorsque on se place dans les conditions précisées plus haut.

IL est à remarquer aussi que la concentration des extraits protéiques utilisés par les auteurs cités plus haut est tellement forte qu'une détermination précise de l'intensité de la coloration des bandes dans ces conditions devient pratiquement impossible.

Influence de la chaleur et du stockage :

Nous trouvons dans la littérature que lorsque le séchage des pâtes aux oeufs se déroule à une température supérieure à 50° C, il se produit une insolubilisation des protéines normalement extractibles à l'eau (31). Ainsi la méthode de FELLEBERG modifiée par HADORN et JUNGKUNZ pour la détermination de la teneur en oeuf dans les pâtes aux oeufs par le dosage des protéines solubles donne des résultats faussés : les teneurs en oeuf trouvées sont beaucoup plus basses que les teneurs réelles. Le même phénomène a été observé lorsqu'il s'agissait du stockagelong (31).

A cause de ces observations nous avons décidé d'étudier l'influence de la chaleur sur l'application de la méthode que nous avons utilisée. Nous avons fabriqué de la pâte aux oeufs contenant 140 g d'oeuf par kg de semoule et l'avons séchée 12 heures à 60° C. Avec la même semoule et de l'oeuf, nous avons confectionné un autre lot de pâtes aux oeufs contenant également 140 g d'oeuf/kg de semoule, mais celle-ci a été séchée à 20° C. Après la migration électrophorétique dans le tampon lactate des extraits de ces pâtes aux oeufs nous n'avons pu déceler une différence significative entre les fractions protéiques de deux pâtes. Les teneurs en oeuf trouvées par la méthode de calcul décrite plus haut étaient également de même ordre.

D'autre part, dans une pâte aux oeufs contenant 150 g d'oeuf/kg de semoule que nous avons conservée un an, nous avons pu retrouver par notre méthode (tampon lactate) la quantité d'oeuf incorporée. Il nous semble donc que la durée du stockage ne limite pas non plus la validité de cette méthode.

Estimation rapide de la teneur en oeuf :

Avec une ou deux pâtes aux oeufs témoins, dans lesquelles la teneur en oeuf est connue, il est facile de faire une estimation rapide et relativement précise de la teneur en oeuf des pâtes inconnues, en comparant simplement à l'oeil l'intensité des différentes bandes dues aux oeufs (E et F dans le cas du Tris et D dans le cas du lactate). Ainsi, on n'utiliserait la densitométrie et le calcul décrit plus haut qu'exceptionnellement. Dans les cas litigieux, les échantillons feraient l'objet d'une analyse approfondie en utilisant également les autres méthodes de sorte que l'ensemble des résultats obtenus permette de juger d'une façon indiscutable de la teneur en oeuf de ces pâtes.

Conclusion :

La méthode de dosage des protéines que nous avons utilisée permet de faire une détermination rapide et précise de la teneur en oeuf dans les pâtes alimentaires aux oeufs entiers.

Il semble que la température du séchage et la durée du stockage n'altèrent pas les résultats.

Il est préférable d'utiliser le tampon lactate, le dosage est plus rapide et semble-t-il plus précis.

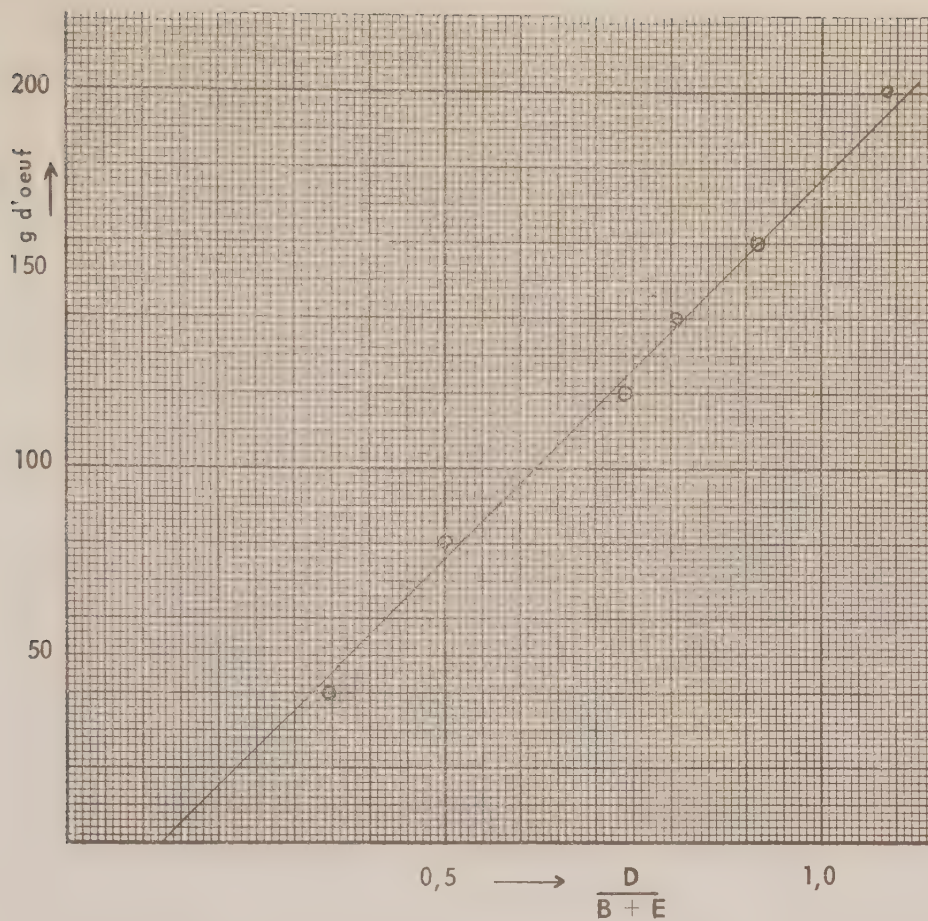
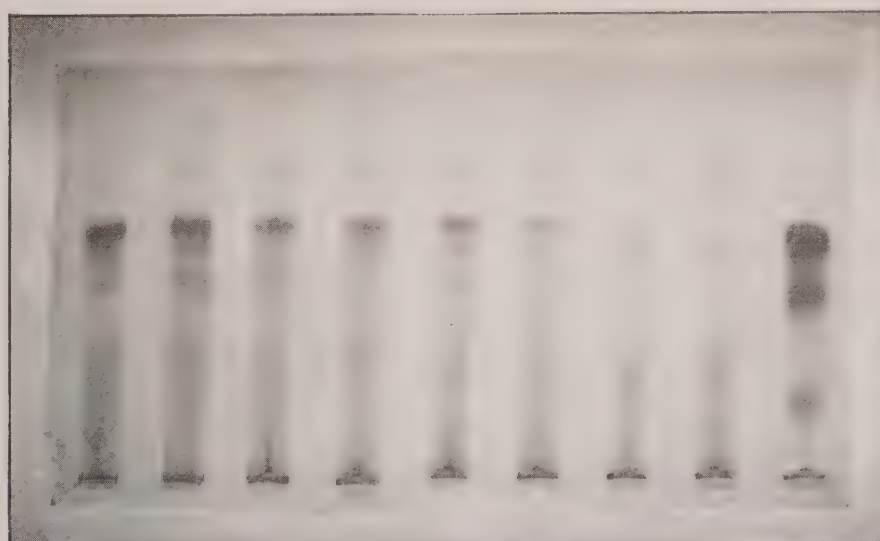


Fig. III - Graphique pour le calcul de la teneur en oeuf des pâtes aux oeufs
Tampon lactate.



PC 200 160 140 120 80 40 S OE

E Oe = Oeufs
S = Semoule
De 40 à 200 = Pâtes aux
oeufs contenant de 40 à 200g
d'oeuf pour 1 kg de semoule
D PC = Pâte de commerce «C»
E.D.B. = Bandes adoptées
B pour le calcul de la teneur en
oeuf.

Fig. IV - Comportement électrophorétique des protéines de pâtes aux oeufs
Tampon lactate.

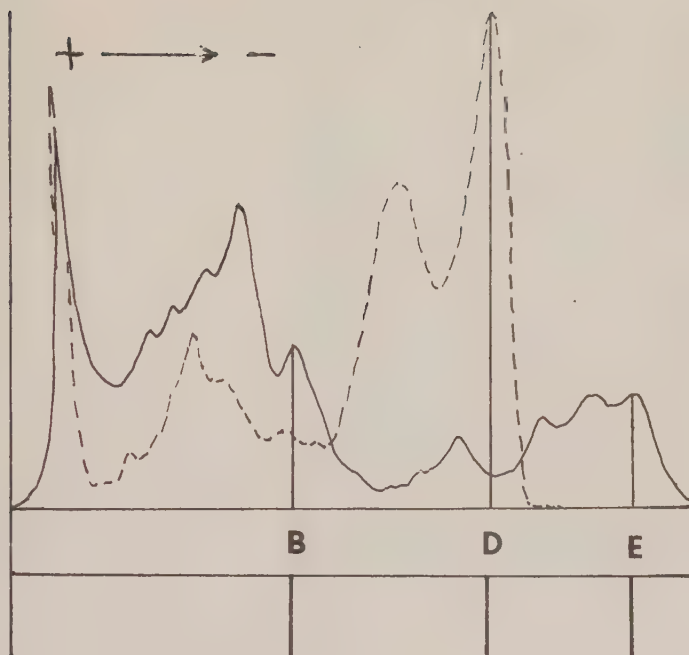


Fig. V - Diagramme obtenu par densitométrie après migration électrophorétique des protéines de semoule (—) et d'oeuf (---) Tampon lactate.

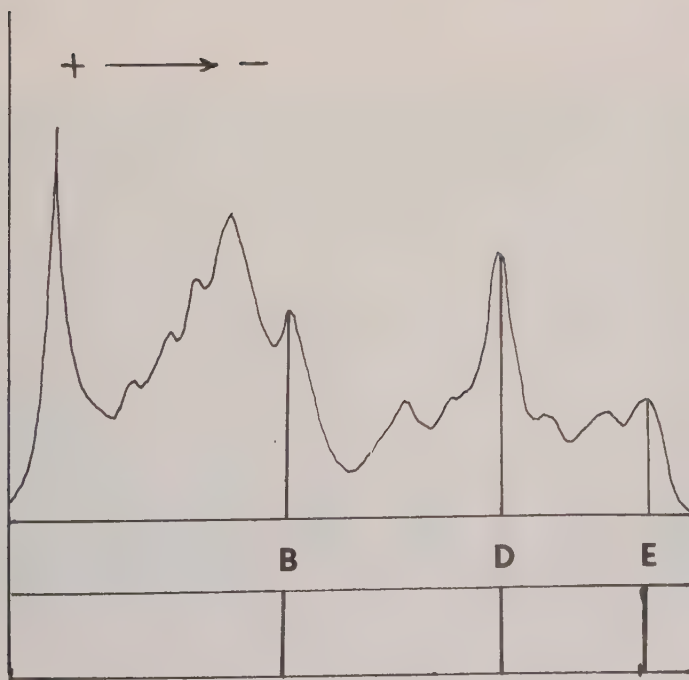


Fig. VI - Diagramme obtenu par densitométrie après migration électrophorétique des protéines de pâtes aux oeufs contenant 140g d'oeuf, Tampon lactate.

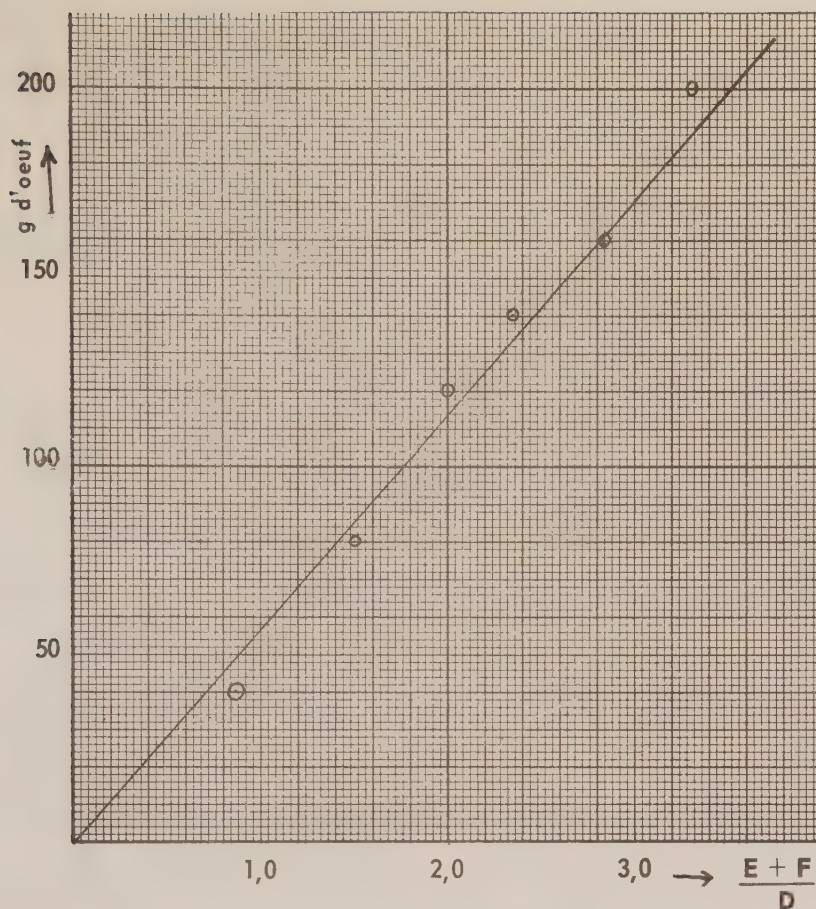
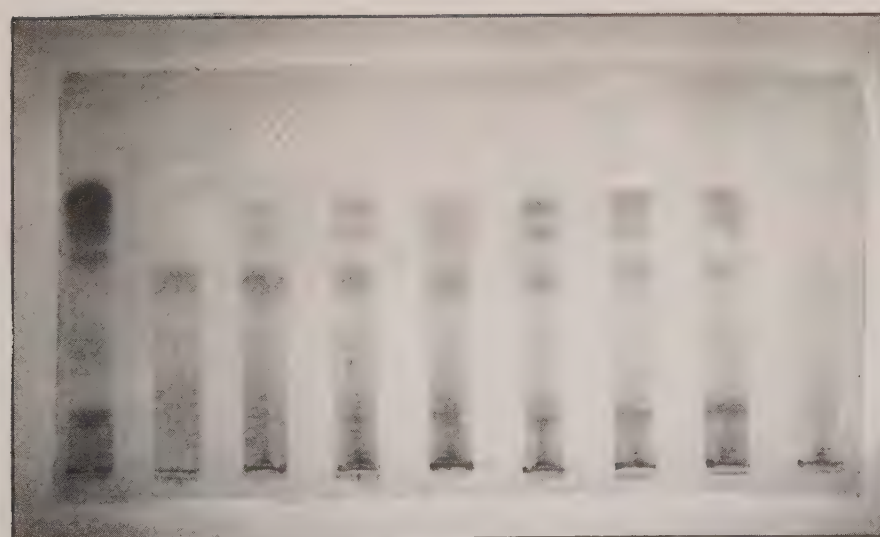


Fig. VII - Graphique pour le calcul de la teneur en oeuf dans les pâtes aux oeufs
Tampon Tris.



OE S 40 80 120 140 160 200 BT

Oe = Oeufs
S = Semoule
De 40 à 200 = Pâtes aux
oeufs contenant de 40 à 200g
d'oeuf pour 1 kg de semoule.
PC = Pâte de commerce «C»
E.D.B. = Bandes adoptées
pour le calcul de la teneur en
oeuf.

Fig. VIII - Comportement électrophorétique des protéines de pâtes aux oeufs.
Tampon Tris.

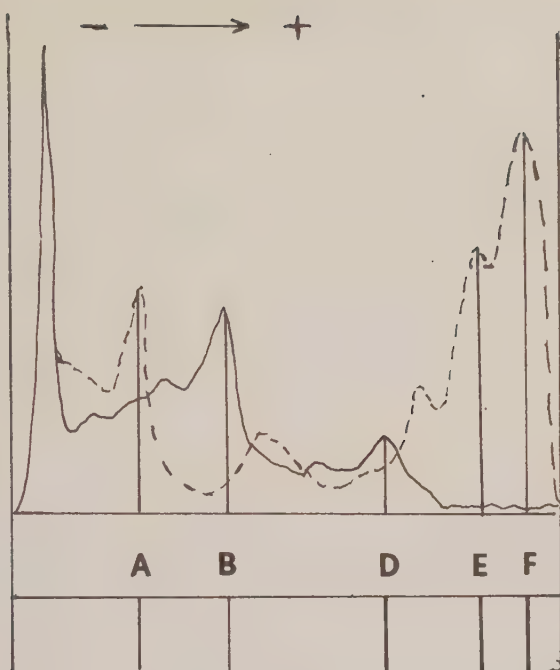


Fig. IX - Diagramme obtenu par densitométrie après migration électrophorétique des protéines de semoule (—) et d'oeuf (---) Tampon Tris.

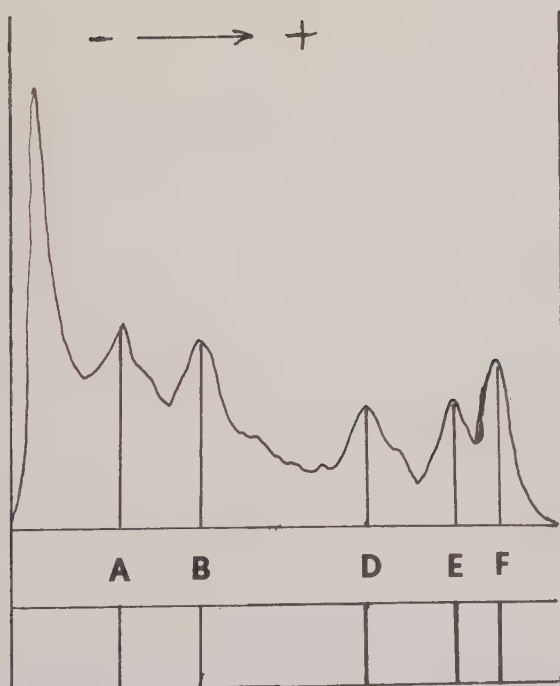


Fig. X - Diagramme obtenu par densitométrie après migration électrophorétique des protéines de pâtes aux oeufs, contenant 140g d'oeuf. Tampon Tris.

VI - ETUDE DES PATES AUX OEUF DE COMMERCE

Quatre pâtes aux oeufs de commerce, de marques différentes ont été étudiées. Chacune d'elles portait la dénomination "Pâtes aux oeufs frais". Nous avons déterminé leur teneur en oeuf en dosant les lipides totaux, les esters méthyliques des acides gras (stéarique + oléique) et les protéines solubles avec le tampon lactate et avec le tampon Tris. Les techniques de ces dosages ainsi que les modes de calcul sont décrits dans les chapitres précédents.

A titre de comparaison, nous avons déterminé la teneur en oeuf des pâtes aux oeufs aussi par le dosage du cholestérol en utilisant la méthode décrite par MACHEBOUEFet DELSAL (49).

L'insaponifiable est dissout dans 3,5 ml de chloroforme. La solution est additionnée de 3,5 ml d'anhydride acétique et de deux gouttes "normales " d'acide sulfurique. La coloration (réaction de Liebermann Burchard) se développe en 30 minutes à 21° C et à l'obscurité. La lecture s'effectue sur un spectrophotomètre à 680 μ m.

Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau XIX. Les pâtes aux oeufs de différentes marques sont désignées par les lettres A,B,C et D.

TABLEAU XIX : DOSAGE DES OEUFs DANS
LES PATES DE COMMERCE

		A	B	C	D
	Lipides totaux	156	144	190	135
	Acides gras 18 et 18:1	190	147	190	125
	Electrophorèse				
	Lactate	120	130	198	115
	Electrophorèse Tris	125	150	215	120
	Chole α = 30	131	142	214	146
	Stérol α = 35	121	132	204	136

D'après le taux de cholestérol, la teneur en oeuf est calculée par la formule:

$$(\text{mg \% de cholestérol} - a) \times 2 \quad (\text{f } 8)$$

ou "a" est un coefficient dont la valeur est discutée ; nous avons utilisé les chiffres 30 et 35 (49). Nous donnons les teneurs en oeuf obtenues par les deux valeurs.

D'après ces résultats, nous pouvons constater que la pâte aux oeufs "B" contient à peu près la teneur prescrite par la loi.

"D" se situe sans doute au dessous de la norme, même si l'infraction n'est pas très importante.

"A" présente une anomalie : la teneur en matières grasses est assez élevée et surtout le taux en acide oléique. Par contre elle n'est pas suffisamment riche en protéines du blanc d'oeuf.

Il est intéressant de constater la très haute teneur en oeuf dans la pâte aux oeufs "C", elle est nettement supérieure à la teneur exigée.

D'une façon générale, nous pouvons dire que les résultats obtenus par les méthodes décrites par nous, donnent des résultats assez concordants. Nous estimons qu'ils sont suffisamment concluants sans recourir au dosage du cholestérol.

DOSAGES PROPOSES

Par quelle méthode arrive-t-on à doser les oeufs dans les pâtes aux oeufs avec la plus grande précision ? Suffit-il d'une seule ou est-il nécessaire d'appliquer plusieurs dosages afin d'avoir des résultats concluants ?

Ce sont les questions principales auxquelles nous avons essayé de répondre par notre étude.

Comme nous avons pu le constater, parmi les dosages étudiés, trois ont donné des résultats assez satisfaisants :

- le dosage des lipides totaux,
- le dosage des esters méthyliques des acides gras.
- l'électrophorèse des protéines solubles (en tampon lactate ou en tampon Tris).

Ainsi, nous proposons ces trois dosages pour la détermination de la teneur en oeuf dans les pâtes alimentaires.

L'analyse peut se dérouler de façon suivante :

- dosage des protéines de pâtes aux oeufs par électrophorèse de préférence en tampon lactate (le dosage peut se faire en assez grande série, 10 échantillons ou davantage en même temps, et les résultats sont obtenus en quelques heures).

- dans les cas imprécis ou dans les autres cas à titre de vérification, on doserait les lipides et ensuite les acides gras.

Il est évident que lorsqu'il s'agit des pâtes au jaune d'oeuf, l'analyse doit se limiter aux deux premiers dosages.

x
x x

Nous n'écartons pas la possibilité d'introduire le dosage du cholestérol aussi, il pourrait s'appliquer dans des cas exceptionnels, mais nous estimons qu'en général il n'apporterait guère de renseignements supplémentaires. Il faut souligner aussi que c'est un dosage assez long et laborieux surtout par la gravimétrie, il se prête donc beaucoup moins aux analyses en série que les procédés que nous préconisons.

CONCLUSIONS GENERALES

D'après notre étude, et en accord avec les résultats donnés dans la littérature, nous estimons que la détermination de la teneur en oeuf par le dosage de la choline est à écarter.

Le dosage des phosphoprotéines par la méthode de THALACKER n'est pas applicable non plus pour la solution de notre problème.

Le dosage des lipides totaux par la méthode azéotrope a l'avantage de n'exiger aucun équipement particulier, les résultats obtenus sont satisfaisants, mais ils ne donnent pas de renseignements sur l'origine des lipides extraits.

Le dosage des esters méthyliques des acides gras demande un appareil assez spécifique. Par les renseignements qu'il fournit sur la nature des lipides, il complète utilement le dosage des lipides totaux.

Les méthodes de dosage des protéines du blanc d'oeuf par électrophorèse, surtout en tampon lactate, sont rapides et précises. Les manipulations sont faciles. Par l'introduction de la filtration l'équipement nécessaire n'est pas excessif.

Les calculs de la teneur en oeuf par ces dosages sont suffisamment précis pour permettre de définir avec précision satisfaisante la quantité d'oeuf incorporée dans les pâtes aux oeufs analysées.

Les trois dosages retenus se complètent l'un l'autre, tandis que les deux premiers sont basés sur la nature du jaune d'oeuf, le troisième nous révèle la présence du blanc d'oeuf.

L'application de ces trois procédés permet de dépister la falsification et les fraudes dont il est rendu pratiquement impossible qu'elles restent ignorées.

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ALIFAX R. Ann. Technol Agric. (1969) 18 167.
- 2 - ALLEN R.J.L Biochem. J (1940) 34 858
- 3 - ALLIOT M.R Ann. Fals. Fraud. (1958) 151 594-596
- 4 - A.A.C.C. (Official méthodes)(1960)
- 5 - ARAGON Z. Unt. Leb. (1906) II 520 et 12 456
- 6 - ARMANDOLA P. Tec. Mol.(1963) 14 94
- 7 - ARMANDOLA P. Tec. Mol;(1964) 15 102
- 8 - ARMANDOLA P. et BARBERO P.G Tech. Mol. (1965) 16 100
- 9 - ARRIZI M. Dipl. Et. Sup. Fac. Sciences Montpellier 1965
- 10 - CASSON C.B. et GRIFFIN F.G Analyst (1959) 84 998
- 11 - CHICHE SIMON C. Thèse de doctorat de spécialité Fac. Sciences Montpellier 1969
- 12 - CHIOFFI V. Boll Lab. Chim. Prov. (1966) 17 788
- 13 - CLEMENT J. et DI COSTANZO G. Bul. Soc. Chim. Biol. (1963) 45 127
- 14 - COX H.E "The chemical analysis of foods" London Churchill A. (1950)
- 15 - CUSTOT F. et LASNE H. Ann. Fals. Fraud. (1960) 619 400
- 16 - DAUBNEY C.G et SEXTON G.E.W. Analyst (1950) 75 305
- 17 - DEHOVE R. La réglementation des produits alimentaires et non alimentaires
et la repression des fraudes. Paris Commerce Edition.
- 18 - DESSIRIER Ann. Fals. Fraud. (1939) 31 464
- 19 - EECKHANT R.G Ferment (1968) 2 66
- 20 - FEILLET P. Contribution à l'étude des protéines du blé. Influence des
facteurs génétiques, agronomiques et technologiques. Ann. Technol.
Agric. (1965) 14 (hors série)

- 21 - FEILLET P. et NIMMO C.C Céréale Chem. (1970) à paraître
- 22 - FEILLET P. Travail non publié
- 23 - von FELLEBERG Mitt. Geb. Lebensm Hyg. (1930) 21 205
- 24 - FOLCH J. LEES M. et SLOANE-STANLEY G.H J. Biol. Chem. (1957) 226 497
- 25 - FRANCIOSI A. et GIOVANNINI G. Tec. mol. (1965) 16 107
- 26 - FRANCIOSI A. et GIOVANNINI G. Tec. mol. (1964) 15 155
- 27 - GENOTTI G. et LAZAVECCHIA G. Tec; mol. (1967) 18 257
- 28 - GROSSFELD Anleitung Unt Leb (1927)
- 29 - HADORN H. et JUNGKUNZ R. Mitt. geb. Lebensm Hyg. (1952) 43 1
- 30 - HADORN H. et JUNGKUNZ R. Mitt. geb. Lebensm Hyg. (1953) 44 1
- 31 - HADORN H. et JUNGKUNZ R. Mitt. geb. Lebensm Hyg. (1953) 44 333
- 32 - HADORN H. et JUNGKUNZ R. Mitt. geb. Lebensm Hyg. (1951) 42 452
- 33 - HADORN H. et ZÜRCHER K. D Lebensm Rund. (1965) 9 269
- 34 - HADORN H. et ZÜRCHER K. Mitt Geb Lebensm Hyg. (1965) 56 71
- 35 - HARTMAN L. J.A.O.C.S (1957) 34 165
- 36 - HAUROWITZ F. The chemistry and function of proteins New-York and London
Academis Press (1963)
- 37 - HEIDUSCHKA A. et SCHELLER E. Z. offentl chem. (1910) 16 22
- 38 - HEIDUSCHKA A. et SCHELLER E. Z. Unt. leb. (1911) 22 175
- 39 - JAMES A.T et MARTIN A.J.P Analyst (1952) 77 915
- 40 - JUCKANACK Z. Unt. leb. (1900) 3 13
- 41 - KAHANE E. C.R.AC.SC. (1963) 257 1996
- 42 - KAHANE E. et MERCIER H. Rev. franç. des corps gras (1964) 12 671
- 43 - KAHANE et ROUX S. In enzymes of lipid metabolism, Pergamon Press, (1961) 82
- 44 - KAHANE E. et REGORD M.T Ann Mat. aliment. (1964) 18 1
- 45 - LASKOWSKI K. et BOLIBOK E. Roczn. Paustw. Zakl. Hig. (1967) 18 749

- 46 - LASKOWSKI K. et BOLIBOK E. Prezgl. Zbozwo-mlyn. (1968) 12 9
- 47 - LECLERCQ B. Arch. Sci. Physiol. (1967) 21 299
- 48 - LECLERCQ B. C.R Acad. Sc. Paris (1968) 267 2235
- 49 - LECOQ R. Manuel d'analyses alimentaires et d'expertises usuelles. Paris
Doin (1965) 2
- 50 - MARINETTI G.V ERBLAND J. et KOCHEN J. Fed. Proc. (1957) 16 837
- 51 - MIAN K. Thèse de doctorat de spécialité Fac. Sciences Montpellier (1970)
- 52 - MORRISSON W.R et SMITH L.M J. Lipid Res. (1964) 5 4
- 53 - MUNTONI F. Quad. Nutr. (1966) 26
- 54 - NIMMO C.C, O'SULLIVAN M.T, MOHAMMAD A. et PENCE J.W. Cereal Chem. (1963) 40 390
- 55 - PARKINSON J. Sci. Food Agric (1966) 17 101
- 56 - PELAGATTI G. Tec. Mol. (1966) 17 14
- 57 - PROMAYON J. Thèse de doctorat de spécialité Fac. Sciences Montpellier (1966)
- 58 - RECH J. Ann. Nutr. Alim. (1968) 22 11
- 59 - ROBERTS L.A Journal of the A.O.A.C. (1968) 51 1220
- 60 - SCHOEMÜLLER J. Lehrbuch der Lebensmittelchemie, Berlin Göttingen Heidelberg
Springer-Verlag (1961)
- 61 - "Semoulerie, Pâtes alimentaires" Paris Mercure (1967)
- 62 - SILANO V. D'ERRICO A.M, MICCO C., MUNTONI F., POCCHIARI F. J. of A.O.A.C
(1968) 51 1213
- 63 - SPITERI J., CASTANG J. et SOLERE M. Ann. Fals. Expert. Chim. (1963) 56 93
- 64 - STADLER Z. Anal. Chim. (1937) 109 168
- 65 - THALACKER R. D. Lebensm Run. (1963) 59 111
- 66 - VOLLAIRE-SALVA J. Ann. Fals. Fraud. (1958) 51 90

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

GENERALITES

a) Historique	p. 1
b) Définitions, dénominations.....	1
c) Aspects généraux de la détermination quanti- tative de la teneur en oeuf.....	3
d) Composition chimique de la semoule et de l'oeuf	4
e) Sur les méthodes proposées.....	5
f) Choix des méthodes.....	8

ETUDE EXPERIMENTALE

Matériels utilisés.....	11
I DOSAGE DES LIPIDES TOTAUX.....	13
II DOSAGE DE LA CHOLINE.....	20
III DOSAGE DES ESTERSMETHYLIQUES DES ACIDES GRAS.....	24
IV DOSAGE DU PHOSPHORE DES PHOSPHOPROTEINES.....	35
V DOSAGE DES PROTEINES SOLUBLES.....	38
VI ETUDE DES PATES AUX OEUFS DU COMMERCE.....	46
Dosages proposés.....	48
Conclusions générales.....	50
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	51

Vu et permis d'imprimer
Montpellier, le

Le Doyen de la Faculté
des Sciences

